

**Deasetilasi Kitin dari Cangkang Bekicot
(*Achatina ullica*) menjadi Kitosan dan
Aplikasinya sebagai *Edible Film***

**Megawati*, Astrilia Damayanti, dan Rizki Widyastuti
Program Studi Teknik Kimia, Jurusan Teknik Kimia, FT
Universitas Negeri Semarang**

***email: megawati@mail.unnes.ac.id_**

Abstrak

Plastik merupakan polimer sintesis yang tidak dapat terdegradasi oleh mikroorganisme, sehingga perlu dikembangkan plastik ramah lingkungan. Pengolahan cangkang bekicot menjadi kitin dan selanjutnya diproses menjadi kitosan dapat diaplikasikan menjadi *edible film* yang dapat menggantikan plastik sintesis. Pengambilan kitin dilakukan dengan deproteinasi dan demineralisasi. Deproteinasi dilakukan dengan mencampur cangkang bekicot dan 1:10 (w/v) NaOH 3,5% (w/v) dan merefluksnya selama 2 jam. Sedangkan demineralisasi dilakukan dengan merefluks campuran serbuk hasil deproteinasi dengan 1:15 (w/v) HCl 1M selama 30 menit. Kitin dapat ditransformasikan menjadi kitosan melalui deasetilasi menggunakan NaOH 40% (w/v) dengan perbandingan 1:20 (w/v) dan merefluksnya selama 1 jam. Kitosan yang diperoleh dihitung rendemennya dan dikarakterisasi menggunakan FTIR untuk mengetahui derajat deasetilasinya. Pembuatan *edible film* dilakukan dengan mereaksikan 1 g kitosan dengan 100 mL asam asetat 1% pada suhu 50°C selama 1 jam. Hasil deproteinasi cangkang bekicot menghasilkan rendemen 70,47%, sedangkan proses demineralisasi menghasilkan rendemen 25,27%. Pada deasetilasi kitin dari cangkang bekicot dengan variasi suhu 50, 60, 70, 80, dan 90°C masing-masing menghasilkan rendemen 79,2; 79; 82,4; 79 dan 85%. Suhu 90°C merupakan kondisi optimum proses deasetilasi kitin. Derajat deasetilasi kitosan yang diperoleh 79,42% dan *edible film* yang dihasilkan berupa lembaran tipis tak berwarna dan kaku.

Kata Kunci: cangkang bekicot, deasetilasi, *edible film*, kitin, kitosan

A. Pendahuluan

Bahan makanan pada umumnya sangat sensitif dan mudah mengalami penurunan kualitas. Salah satu cara untuk mencegah atau memperlambat kerusakan adalah dengan pengemasan yang tepat. Plastik merupakan bahan pengemas yang banyak digunakan saat ini dan mempunyai beberapa kekurangan sehingga dianggap kurang efisien. Plastik memiliki sifat *barrier* terhadap oksigen, karbondioksida, serta uap air yang baik, dan harganya tidak terlalu mahal. Namun, bahan pengemas tersebut sulit diuraikan oleh mikroorganisme pembusuk, sehingga dapat mencemari lingkungan. Beberapa pendekatan yang dilakukan saat ini dalam memecahkan masalah lingkungan antara lain daur ulang dan teknologi pengolahan sampah (Apriyanto, 2007).

Seiring dengan meningkatnya kesadaran masyarakat terhadap pelestarian lingkungan, perlu dikembangkan suatu plastik yang bersifat ramah lingkungan/*biodegradable*. Plastik *biodegradable* terbuat dari material yang dapat diperbarui, yaitu senyawa-senyawa yang terdapat dalam tanaman, misalnya selulosa atau yang berasal dari hewan misalnya kolagen, kasein, kitin, protein atau lipida (Apriyanto, 2007).

Bekicot (*Achatina fullica*) merupakan hama persawahan yang sering dimanfaatkan masyarakat sebagai pakan ternak. Selain sebagai pakan ternak, cangkangnya dapat digunakan sebagai hiasan, tetapi tidak jarang cangkang bekicot dibuang begitu saja dan dibiarkan membusuk yang akhirnya menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan. Salah satu alternatif upaya pemanfaatan limbah cangkang bekicot agar bernilai ekonomis adalah pengolahan menjadi kitin dan kitosan (Rahmadani, 2011).

Kitin adalah senyawa karbohidrat yang termasuk dalam polisakarida, tersusun atas monomer-monomer asetil glukosamin yang

saling berikatan dengan ikatan 1,4 beta membentuk suatu unit polimer linier, yaitu (1,4)-2-asetamida-2-deoksi-D-glukosa atau beta-(1,4)-N-asetil glukosamin (Rahmawati, 2007). Kitin diperoleh dengan melakukan proses pemurnian. Proses isolasi kitin terdiri dua tahap utama, yaitu deproteinasi dan demineralisasi. Salah satu senyawa turunan kitin yaitu kitosan yang dibuat dengan cara mendeasetilasi senyawa kitin (Rahmadani, 2011).

Kitosan merupakan biopolimer alami turunan dari kitin melalui proses deasetilasi yang berasal dari cangkang *crustaseae*. Pemanfaatan kitosan dalam bidang industri di Indonesia belum banyak digunakan, misalnya kitosan dapat digunakan sebagai penstabil, pengental, pengemulsi makanan, dan pembentuk lapisan pelindung jernih/*film*. Sifat kitosan yang tidak berbahaya, *biodegradable* dan *biocompatible*, telah banyak digunakan sebagai kemasan *edible film*.

Edible film adalah lapisan tipis yang dibuat dari bahan yang dapat dimakan, dibentuk di atas komponen makanan (*film*), atau diletakkan di antara komponen makanan (*coating*) yang berfungsi sebagai penghambat terhadap transfer massa (misalnya kelembapan, oksigen, lipida, zat terlarut), sebagai *carrier* bahan makanan atau aditif, dan untuk meningkatkan penanganan makanan (Astuti, 2008). Kelebihan *edible film* sebagai pengemas produk pangan antara lain dapat melindungi produk dari pengaruh lingkungan dan kontaminan, sifatnya yang transparan sehingga penampakan produk yang dikemas masih terlihat dan dapat dimakan sehingga tidak menyebabkan pencemaran lingkungan (Astuti, 2008).

1. Bekicot

Bekicot atau *Achatina fulica* adalah siput darat yang tergolong dalam suku *Achatinidae* dengan kalsifikasinya (Rahmawati, 2007), yang ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Klasifikasi ilmiah bekicot

Klasifikasi Ilmiah	Keterangan
Divisio	<i>Mollusca</i>
Kelas	<i>Gastropoda</i>
Ordo	<i>Pulmonata</i>
Familia	<i>Achatinidae</i>
Genus	<i>Achatina</i>
Spesies	<i>Achatina fullica</i>

Bekicot (gambar 2.1) termasuk dalam golongan *mollusca*, mempunyai tubuh lunak yang dilindungi oleh cangkang yang keras dan merupakan hama persawahan yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai pakan ternak, seperti itik. Selain itu, daging bekicot dapat dimanfaatkan sebagai sumber protein dalam makanan manusia karena banyak mengandung asam amino esensial dan bisa dipakai untuk obat tradisional. Bekicot juga sudah menjadi komoditas ekspor sehingga menyisakan cangkang bekicot dalam jumlah banyak.



Gambar 2.1. Bekicot

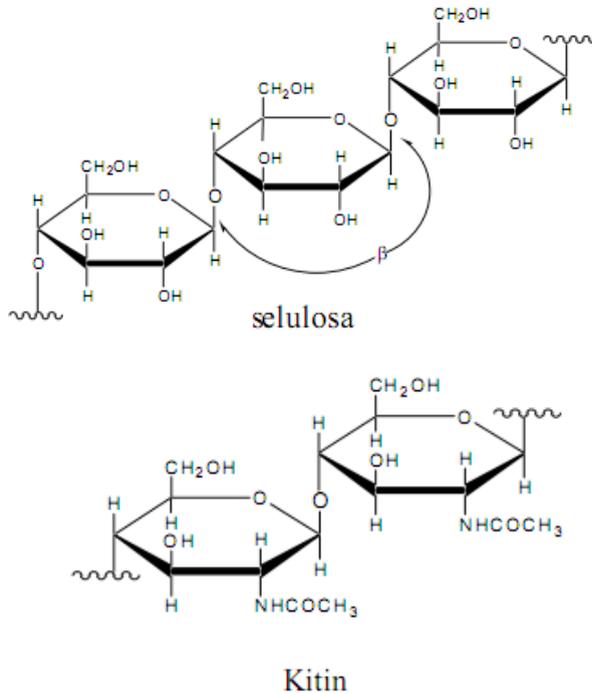
Pemanfaatan limbah cangkang bekicot di Indonesia belum optimal, biasanya hanya dipakai sebagai bahan campuran makanan ternak (Puspitasari, 2007). Cangkang bekicot juga dapat digunakan sebagai hiasan, tetapi tidak jarang cangkang bekicot dibuang begitu saja dan dibiarkan membusuk yang akhirnya menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan. Cangkang bekicot banyak mengandung senyawa, antara lain protein, lemak, air, kitin, dan mineral-mineral seperti kalsium, kalium, magnesium, besi, seng, dan mangan (Rakhmawati, 2007).

2. Kitin

Kitin merupakan bahan organik utama yang terdapat pada kelompok hewan crustaceae, insekta, fungi, *Mollusca*, dan arthropoda. Kitin diketahui terdapat pada kulit siput, kepiting, kerang, dan bekicot (Kusumaningsih, 2004). Kitin adalah senyawa karbohidrat yang termasuk dalam polisakarida, tersusun atas monomer-monomer asetil glukosamin yang saling berikatan dengan ikatan 1,4 beta membentuk suatu unit polimer linier, yaitu (1,4)-2-asetamido-2-deoksi-D-glukosa atau beta-(1,4)-N-asetil glukosamin (Rakhmawati, 2007). Kitin merupakan polimer alam terbanyak di dunia setelah selulosa (Azhar, 2010). Struktur molekul kitin mirip selulosa. Struktur senyawa kitin dan selulosa dapat dilihat pada gambar 2.2. Prosentase kandungan kitin berbeda untuk tiap jenis hewan (Puspitasari, 2007). Cangkang kering arthropoda rata-rata mengandung 20–50% kitin (Kusumaningsih, 2004). Kitin diperoleh dengan melakukan proses pemurnian. (Rakhmawati, 2007).

Proses isolasi kitin terdiri dua tahap utama, yaitu deproteinasi dan demineralisasi. Deproteinasi bertujuan untuk proses menghilangkan protein yang terdapat pada cangkang bekicot. Tahap

ini dilakukan dengan penambahan NaOH pada konsentrasi yang rendah. Protein dari kitin akan terekstrak dalam bentuk Na-proteinat. Ion Na^+ dari NaOH akan mengikat ujung rantai protein yang bermuatan negatif dan mengendap menghasilkan gumpalan putih. Demineralisasi bertujuan untuk menghilangkan mineral-mineral yang terkandung dalam cangkang bekicot. Proses pemisahan mineral yang ada yang pada kitin terutama CaCO_3 ditunjukkan dengan terbentuknya gas CO_2 yang berupa gelembung udara. Tahap ini dilakukan dengan menambahkan HCl encer (Rakhmawati, 2007) dan kemudian terjadi reaksi (Kusumaningsih 2004).



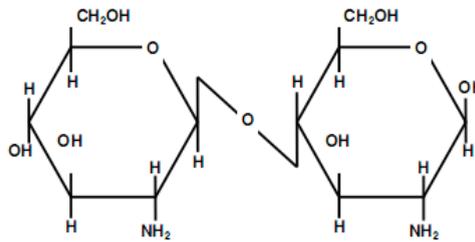
Gambar 2.2. Struktur Selulosa dan Kitin

Salah satu senyawa turunan kitin yaitu kitosan yang dibuat dengan cara mendeasetilasi senyawa kitin (Rahmadani, 2011). Kitin

yang telah dihilangkan gugus asetilnya melalui proses deasetilasi disebut kitosan.

3. Kitosan

Kitosan adalah polisakarida alami hasil dari proses deasetilasi (penghilangan gugus-COCH₃) kitin menggunakan larutan basa atau enzim, dan polisakarida terbesar setelah selulosa (Pranoto, 2007). Struktur kitosan dapat dilihat pada gambar 2.3.



Gambar 2.3. Struktur kitosan

Deasetilasi merupakan proses penghilangan gugus asetil. Proses deasetilasi bertujuan untuk memutuskan ikatan kovalen antara gugus asetil dengan nitrogen pada gugus asetamida kitin sehingga berubah menjadi gugus amina (NH₂) (Azhar, 2010). Proses deasetilasi kitosan (penghilangan gugus asetil) kitin menjadi kitosan dapat dilakukan secara kimiawi maupun enzimatis. Secara kimiawi, deasetilasi kitin dilakukan dengan penambahan NaOH (Kolodziejska, dkk., 2000) sedangkan secara enzimatis digunakan enzim kitin deasetilase (CDA) (Astuti, 2008). Proses deasetilasi kitin dapat dilakukan dengan cara memanaskan kitin dalam larutan basa kuat konsentrasi tinggi (Bastaman, 1989, Azhar, 2010).

Kitosan merupakan senyawa yang tidak larut dalam air, larutan basa kuat, sedikit larut dalam HCl dan HNO₃ dan tidak larut dalam

H_2SO_4 (Azhar, 2010). Kitosan merupakan poliglukosamin yang dapat larut dalam kebanyakan asam seperti asam asetat, asam laktat atau asam-asam organik (adipat, malat), asam mineral seperti HCl, HNO_3 pada konsentrasi 1% dan mempunyai daya larut terbatas dalam asam fosfat dan tidak larut dalam asam sulfat (Astuti, 2008).

Ukuran besarnya penghilangan gugus asetil pada gugus asetamida kitin dikenal dengan istilah derajat deasetilasi (DD). Derajat deasetilasi adalah salah satu karakteristik kimia yang paling penting karena derajat deasetilasi mempengaruhi performa dari kitosan pada banyak aplikasinya (Azhar, 2010). Derajat deasetilasi kitin terhadap kitosan biasanya berkisar antara 70–100% (Rakhmawati, 2007). Metode yang dapat dipakai untuk penentuan derajat deasetilasi di antaranya adalah ninhydrin tes, titrasi potensiometri linier, spektroskopi inframerah dekat, titrasi hydrogen bromide, spektroskopi NMR, spektroskopi FTIR, dan turunan spektroskopi UV (Puspitasari, 2007).

FTIR (*Fourier Transform Infrared*) adalah suatu metode karakteristik gugus fungsi berdasarkan pada serapan radiasi inframerah oleh atom yang mengalami vibrasi (Azhar, 2010). Analisis ini berdasarkan pada fakta bahwa molekul memiliki frekuensi vibrasi yang spesifik. Derajat deasetilasi kitosan yang terbentuk ditentukan dengan spektroskopi FTIR dengan bilangan gelombang berkisar $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ (Puspitasari, 2007). Penentuan derajat deasetilasi dengan spektroskopi inframerah dapat dilakukan dengan metode *base line* yang dirumuskan oleh Baxter (Rakhmawati, 2007). Derajat deasetilasi dihitung dari perbandingan antara absorbansi pada 1655 cm^{-1} dengan absorbansi 3450 cm^{-1} dengan Persamaan (1).

$$DD = 100 - [(A_{1655}/A_{3450}) \times 115] \quad (1)$$

Derajat deasetilasi menentukan muatan gugus amina bebas dalam polisakarida serta digunakan dalam membedakan antara kitin dan kitosan. Semakin banyak gugus amina bebas, maka kitosan semakin murni (Puspitasari, 2007). Semakin tinggi derajat deasetilasi, maka kualitas kitosan semakin baik (Rakhmawati, 2007). Sifat dan mutu kitosan dapat dilihat pada Tabel 2.2 dan derajat deasetilasi kitosan disajikan pada Tabel 2.3.

Penelitian tentang deasetilasi kitin telah banyak diteiliti. Menurut Puspawati dan Simpen (2010) proses deasetilasi kitin menggunakan konsentrasi NaOH 50; 55 dan 60% diperoleh rendemen kitosan sebanyak 50,40; 50,62 dan 54,90% dengan suhu 120°C selama 4 jam. Adapun derajat deasetilasi yang diperoleh secara berturut-turut adalah 74,66; 77,25 dan 88,04%. Hasil penelitian Azhar (2010) menunjukkan bahwa proses deasetilasi kitin yang dilakukan menggunakan NaOH 40 dan 50% pada suhu 100°C selama 5 jam diperoleh derajat deasetilasi 57,3183 dan 65,6364%.

Tabel 2.2. Sifat dan mutu kitosan
Sumber: *Proton Laboratories Inc (1987) dalam Astuti (2008)*

Sifat	Nilai
Ukuran partikel	Serpihan sampai bubuk
Kadar air (% berat kering)	≤ 10,0
Kadar abu	≤ 2,0
Warna larutan	Jernih
Derajat Deasetilasi (%)	≥ 70
Viskositas (cps)	
Rendah	< 200
Medium	200-799
Tinggi	800-2000
Ekstra tinggi	> 2000

Tabel 2.3. Derajat deasetilasi pada kitosan

Sumber: Samar, dkk (2012)

Perlakuan kitin		DD (%)
Ukuran partikel kitosan	konsentrasi NaOH (%)	
20 mesh	30	67,58 ±0,92
	40	75,77±3,54
	50	78,83±1,05
40 mesh	30	76,89±0,89
	40	78,64±0,86
	50	83,05±0,29
60 mesh	30	88,39±0,49
	40	89,17±0,28
	50	95,19±0,74

Penelitian lainnya, Kusumaningsih (2004) menunjukkan proses deasetilasi yang dilakukan menggunakan NaOH 60% pada suhu 100–140 °C selama 1 jam menghasilkan kitosan dengan derajat deasetilasi 74,78–77,99%. Menurut Ramadhan, dkk. (2010), proses deasetilasi kitin menjadi kitosan dilakukan secara bertahap menggunakan NaOH 50% pada suhu 120°C selama 2 × 3 jam menghasilkan rendemen kitosan dan derajat deasetilasi secara berturut-turut adalah 86,34 dan 88%. Derajat deasetilasi kitosan ditentukan oleh beberapa faktor, yaitu konsentrasi NaOH, suhu, dan lama proses deasetilasinya (Azhar, 2010). Namun, proses deasetilasi menggunakan NaOH 40% pada suhu 50, 60, 70, 80 dan 90°C selama 1 jam belum pernah diteliti, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk membandingkan rendemen kitosan dan mengetahui derajat deasetilasi yang diperoleh.

Kitin dan kitosan merupakan senyawa kimia yang mudah menyesuaikan diri, hidrofilik, memiliki reaktivitas kimia yang tinggi (karena mengandung gugus OH dan gugus NH₂) untuk ligan yang bervariasi (sebagai bahan pewarna dan penukar ion). Di samping

itu, ketahanan kimia keduanya cukup baik, yaitu kitosan larut dalam larutan asam, tetapi tidak larut dalam basa dan ikatan silang kitosan memiliki sifat yang sama baiknya dengan kitin, serta tidak larut dalam media campuran asam dan basa (Astuti, 2008).

Banyak sekali potensi kitosan yang sudah banyak diteliti, mulai dari pangan, mikrobiologi, kesehatan, pertanian, dan sebagainya. Aplikasi kitosan dalam bidang pangan salah satunya yaitu sebagai makanan berserat sehingga dapat meningkatkan massa feses, menurunkan respons glikemik dari makanan, dan menurunkan kadar kolesterol. Aplikasi kitosan sebagai antimikrobal untuk pengemas (Astuti, 2008) menggunakan kitosan sebagai bahan dasar pengemas berupa film. Aplikasi kitin, kitosan, dan turunannya dapat dilihat pada tabel 2.4.

Tabel 2.4. Aplikasi kitin, kitosan dan turunannya dalam industri makanan
Sumber: Shahidi, dkk., 1999 dalam Astuti, 2008

Aplikasi	Contoh
Antimikroba	Bakterisidal, fungisidal, dan menghambat kontaminasi jamur pada komoditi pertanian.
Industri <i>edible film</i>	Mengatur perpindahan uap air antara makanan dan lingkungan sekitar; <i>flavour</i> ; mereduksi tekanan parsial oksigen; pengatur suhu; menahan browning enzimatis pada buah; dan mengembalikan tekanan membran.
Bahan aditif	Mempertahankan <i>flavour</i> alami; bahan pengontrol tekstur; bahan pengemulsi; bahan pengental dan stabilizer; dan penstabil warna.
Sifat nutrisi	Sebagian serat diet; penurun kolestrol; persediaan dan tambahan makanan ikan; mereduksi penyerapan lemak; memproduksi protein sel tunggal; bahan antigestris (radang lambung); dan sebagai bahan makanan bayi.
Pengolah limbah makanan padat	Flokulan dan pemecah agar
Pemurnian air	Memisahkan ion-ion logam, pestisida dan penjernih.

4. *Edible Film*

Edible film adalah lapisan tipis dan kontinu yang dibuat dari bahan yang dapat dimakan, dibentuk di atas komponen makanan (film) atau diletakkan di antara komponen makanan (coating) yang berfungsi sebagai penghambat terhadap transfer massa (misalnya kelembapan, oksigen, lipida, zat terlarut), sebagai carrier bahan makanan atau aditif, dan untuk meningkatkan penanganan makanan). Penggunaan yang potensial dari *edible film* dan pelapisan biopolimer adalah untuk memperlambat pengangkutan gas O_2 dan CO_2 untuk buah dan sayur, migrasi uap air untuk pangan kering atau setengah basah, dan migrasi bahan terlarut dari pangan beku (Astuti, 2008).

Edible film merupakan bahan pengemas yang *biodegradable*, pengganti plastik sintetis. Plastik *biodegradable* atau bioplastik merupakan *film* kemasan yang dapat didaur ulang dan dapat dihancurkan secara alami (Apriyanto, 2007). Plastik sintesis berasal dari minyak bumi yang memiliki sifat tidak dapat didegradasi oleh mikroorganisme di alam (Megawati dan Ulinuha, 2014). Substitusi dari plastik sintesis yang *nonbiodegradable* ke bioplastik telah menjadi suatu jawaban terhadap masalah tersebut (Apriyanto, 2007).

Kitosan sebagai polimer *film* dari karbohidrat lainnya, memiliki sifat selektif permeabel terhadap gas-gas (CO_2 dan O_2), tetapi kurang mampu menghambat perpindahan air. Secara umum, pelapis yang tersusun dari polisakarida dan turunannya hanya sedikit menahan penguapan air, tetapi selektif untuk mengontrol difusi dari berbagai gas (Astuti, 2008).

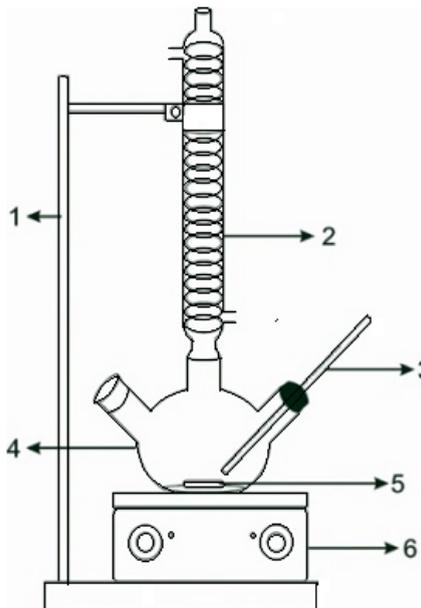
Kemampuan dari kitosan *film* dibatasi oleh permeabilitas kelembapan yang relatif tinggi. Salah satu kegunaannya yaitu

sebagai pengemas roti, di mana difusi kelembapan yang melalui kemasan dapat digunakan dalam menyeimbangkan kelembapan kulitnya yang rendah (Astuti, 2008).

5. Prosedur Deasetilasi Menggunakan Refluks

Pada proses deasetilasi ini digunakan bahan, antara lain cangkang bekicot yang diperoleh dari Desa Karangmalang, Kecamatan Gebog, Natrium hidroksida (NaOH), asam klorida (HCl), aquades, asam asetat (CH_3COOH), etil alkohol 96%, polietilen glikol, indikator pH, dan kertas saring.

Proses berlangsung menggunakan rangkaian alat ekstraksi refluks yang dapat dilihat pada gambar 2.4.



Gambar 2.4. Seperangkat alat ekstraksi refluks

Keterangan Alat: 1. Statif 2. Kondensor 3. Termometer 4. Labu Leher Tiga 5. Stirrer 6. Hot Plate

Prosedur deasetilasi kitin menggunakan ekstraksi refluks adalah sebagai berikut:

a. Persiapan Bahan

Pada proses ini, cangkang bekicot dibersihkan dari dagingnya. Kemudian, cangkang tersebut dicuci dengan air bersih. Setelah proses pencucian, cangkang dikeringkan di bawah sinar matahari. Cangkang yang telah kering kemudian dihaluskan dengan mortar hingga menjadi serbuk. Serbuk cangkang bekicot yang diperoleh selanjutnya diayak menggunakan ayakan 150 mesh.

b. Proses Deproteinasi

Pada proses ini, serbuk cangkang bekicot ditambahkan larutan NaOH 3,5% (w/v) dengan perbandingan 10:1 (v/w). Setelah itu, campuran direfluks dan diaduk menggunakan *stirrer* selama 2 jam pada suhu 65–70°C. Campuran kemudian didinginkan dan disaring. Residu (padatan) yang didapat kemudian dicuci dengan aquades hingga pH netral. Selanjutnya, padatan yang dihasilkan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C hingga mendapat berat konstan.

c. Proses Demineralisasi

Pada proses demineralisasi, serbuk cangkang bekicot hasil deproteinasi dimasukkan dalam labu refluks 250 ml. Kemudian, ditambahkan larutan HCl 1M dengan perbandingan 15:1 (v/w). Selanjutnya, campuran direfluks pada suhu 40°C sambil diaduk dengan *stirrer* selama 30 menit. Campuran kemudian didinginkan dan disaring. Residu (padatan) yang dihasilkan selanjutnya dicuci dengan aquades hingga pH netral. Setelah itu, padatan yang dihasilkan dikeringkan menggunakan oven

pada suhu 60°C hingga berat konstan. Hasil yang didapatkan berupa kitin.

d. Proses Deasetilasi Kitin Menjadi Kitosan

Pada proses ini, kitin yang diperoleh dari hasil sebelumnya ditambahkan larutan NaOH 40% dengan perbandingan 20:1 (v/w). Setelah itu, campuran direfluks dan dipanaskan dengan variasi suhu 50; 60; 70; 80 dan 90°C selama 1 jam dan disertai pengadukan dengan *stirrer*. Campuran selanjutnya didinginkan dan disaring. Residu (padatan) yang didapatkan kemudian dicuci dengan aquades. Padatan kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C hingga berat konstan. Hasil yang diperoleh berupa kitosan. Selanjutnya, yaitu menghitung rendemen kitosan cangkang bekicot dengan persamaan berikut.

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat kitosan cangkang bekicot yang didapat}}{\text{Berat serbuk kitin}} \times 100\% \quad (2)$$

e. Pengujian Derajat Deasetilasi Kitosan Cangkang Bekicot

Proses selanjutnya yaitu pengujian derajat deasetilasi kitosan cangkang bekicot dengan metode analisis FTIR (*Fourier Transform Infrared*) yang digunakan untuk mengetahui gugus fungsi pada kitosan cangkang bekicot sehingga dapat mengetahui derajat deasetilasi kitosan. Uji FTIR ini dilakukan di Laboratorium Instrumen dan Analisis Teknik Kimia Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

f. Pembuatan *Edible Film*

Pada proses pembuatan *edible film*, kitosan seberat 1 gram dilarutkan dalam 100 mL asam asetat 1%. Kemudian,

larutan dihomogenkan dengan pengaduk/*stirrer* pada suhu 50°C selama 60 menit sampai larutan film tersuspensi dengan sempurna. Setelah itu, larutan film dituang pada *petri dish* yang dibersihkan dengan etanol 96%. Selanjutnya, larutan film diratakan dan dikeringkan pada suhu 45°C hingga mencapai berat konstan. Film yang sudah kering kemudian dilepas dari cetakan dan dimasukkan pada desikator. Film yang diperoleh berupa *edible film*.

B. Pembahasan

1. Preparasi Bahan Baku Cangkang Bekicot

Cangkang bekicot, seperti terlihat pada gambar 2.5, dibersihkan dari dagingnya dan dicuci bersih dengan air untuk menghilangkan kotoran, seperti tanah. Cangkang bekicot yang sudah bersih dikeringkan di bawah sinar matahari untuk menghilangkan kadar air dalam cangkang bekicot sehingga mudah dihaluskan dan membuat cangkang bekicot tidak bau lagi.

Cangkang bekicot yang telah dikeringkan, kemudian dihaluskan menggunakan mortar untuk memperbesar luas permukaan cangkang karena semakin luas permukaan cangkang, semakin besar kontak dengan larutan. Serbuk cangkang bekicot kemudian diayak dan dihasilkan serbuk cangkang bekicot berwarna cokelat muda (gambar 2.6).

2. Proses Deproteinasi

Kadar protein yang dapat dihilangkan sebesar 29,53%. Sedangkan, rendemen serbuk cangkang bekicot setelah deproteinasi yang dihasilkan sebanyak 70,47% berwarna cokelat muda (gambar 2.7). Menurut Rakhmawati (2007), deproteinasi cangkang bekicot menggunakan NaOH 3,5% (w/v) dengan

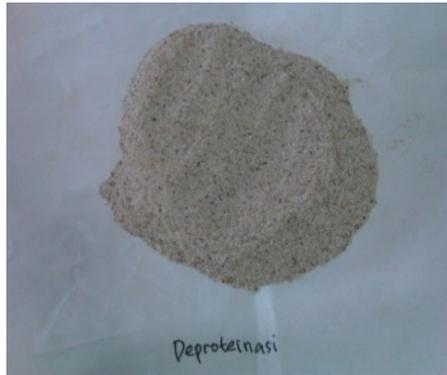
perbandingan 10:1 (v/w) dan direfluks 65°C selama 2 jam menghasilkan rendemen 95,05%. Pada penelitian ini, rendemen yang dihasilkan lebih rendah karena dimungkinkan pada umur bekicot, juga sistem pengadukan yang digunakan. Pada percobaan ini, proses deproteinasi hanya menggunakan *stirrer*, sementara percobaan yang dilakukan oleh Rakhmawati tidak ada penjelasan tentang hal itu. Sistem pengadukan akan mempercepat terjadinya kontak antara padatan dengan pelarut.



Gambar 2.5. Cangkang bekicot



Gambar 2.6. Serbuk cangkang bekicot



Gambar 2.7. Serbuk hasil deproteinasi

3. Proses Demineralisasi

Dalam rangka mendapatkan kitin yang lebih murni, serbuk cangkang bekicot hasil deproteinasi dihilangkan mineralnya yang disebut dengan demineralisasi. Kadar mineral yang dapat dihilangkan sebesar 74,73%. Sedangkan rendemen yang dihasilkan berupa kitin sebanyak 25,27% dan berwarna putih kecokelatan (gambar 2.8).



Gambar 2.8. Kitin cangkang bekicot

Menurut Suhardi (1993) dalam Kusumaningsih (2004) cangkang kering *arthropoda* rata-rata mengandung 20–50% kitin. Kadar mineral atau rendemen bebas mineral yang didapatkan

pada percobaan berkesesuaian dengan penelitian sejenis. Hal ini menandakan prosedur demineralisasi yang diterapkan cukup bagus untuk menghilangkan mineral.

4. Proses Deasetilasi

Dalam percobaan deasetilasi, kitin cangkang bekicot diproses menjadi kitosan (gambar 2.9) dengan menambahkan NaOH dengan variasi suhu. Variasi suhu yang digunakan adalah 50, 60, 70, 80, dan 90°C. Deasetilasi merupakan proses pengubahan gugus asetil ($-\text{NHCOCH}_3$) pada kitin menjadi gugus amina ($-\text{NH}_2$) pada kitosan dengan penambahan NaOH konsentrasi tinggi (Kusumaningsih, 2004). Perbandingan rendemen kitosan pada variasi suhu dapat dilihat pada tabel 2.5.



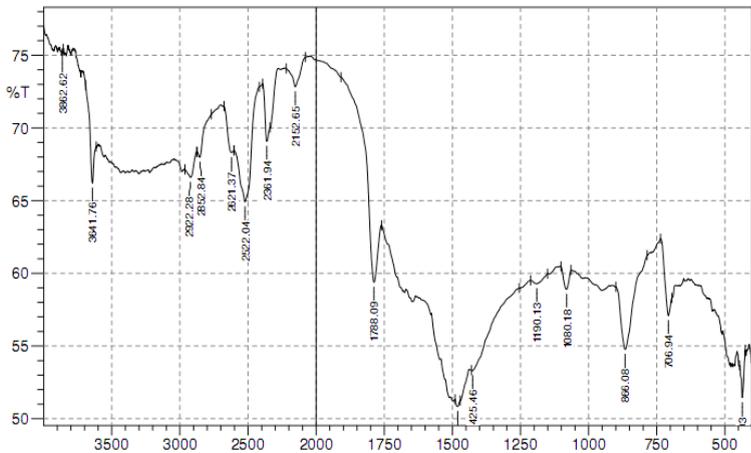
Gambar 2.9. Kitosan cangkang bekicot

Tabel 2.5. Tabel Rendemen Kitosan

Suhu (°C)	Rendemen kitosan (%)
50	79,2
60	79
70	82,4
80	79
90	85

Tabel 2.5 menunjukkan bahwa pada suhu 90°C menghasilkan rendemen yang lebih banyak dibandingkan suhu 70°C. Hal ini menunjukkan bahwa pada kisaran suhu 50, 60, 70, 80, dan 90°C, kondisi optimum proses deasetilasi kitin terjadi pada suhu 90°C sehingga dapat menghasilkan rendemen kitosan yang paling besar. Terlihat juga, semakin tinggi suhu, rendemen kitosan cenderung semakin meningkat. Menurut Ramadhan, dkk (2010) proses deasetilasi kitin menjadi kitosan menggunakan NaOH 50% pada suhu 120°C selama 2 × 3 jam menghasilkan rendemen kitosan sebesar 86,34%. Hal ini membuktikan bahwa semakin tinggi suhu, maka rendemen kitosan semakin meningkat.

Karakteristik kitosan yang paling penting adalah derajat deasetilasi (DD). Nilai derajat deasetilasi dapat ditentukan dengan uji FTIR (*Fourier Transform Infrared*). Analisis FTIR digunakan untuk mengetahui gugus fungsi pada kitosan cangkang bekicot sehingga dapat mengetahui derajat deasetilasi kitosan (gambar 2.6).

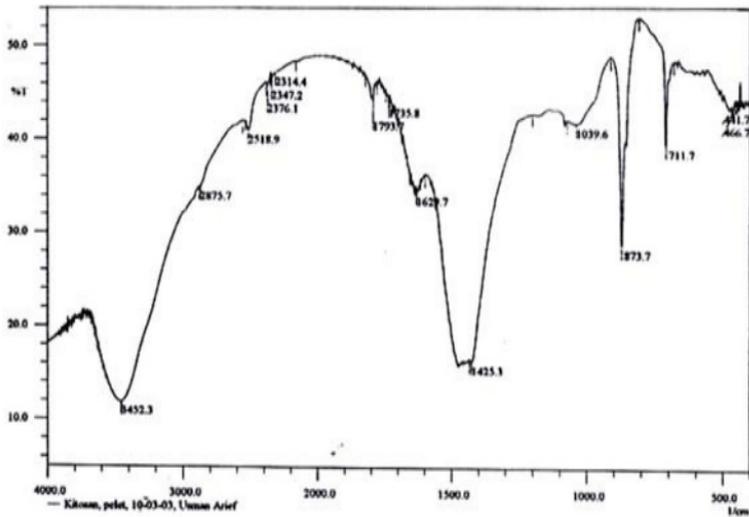


Gambar 2.6. Spektra FTIR Kitosan

Berdasarkan gambar tersebut, spektra kitosan menginformasikan adanya pita serapan pada bilangan gelombang 3641,76 cm^{-1} sebagai hasil dari vibrasi uluran -OH dan vibrasi uluran NH_2 yang

tumpang tindih. Serapan -OH muncul pada daerah $3580\text{-}3670\text{ cm}^{-1}$ (Sastrohamidjojo, 1992), sedangkan serapan NH_2 muncul pada daerah $3000\text{-}3700\text{ cm}^{-1}$ (Fessenden, 1989). Serapan pada bilangan gelombang 2852 cm^{-1} mengindikasikan gugus C-H dari alkana, yaitu menunjukkan vibrasi ulur gugus $\text{-CH}_2\text{-}$. Hilangnya gugus metil (-CH_3) yang terikat pada amida (-NHCOCH_3) dapat diketahui dari hilangnya serapan pada bilangan gelombang $2922,28\text{ cm}^{-1}$. Serapan -CH alkana muncul pada daerah $2800\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$ (Fessenden, 1989). Hilangnya gugus C=O suatu amida (-NHCO-) diketahui dari hilangnya pita serapan yang terdapat pada bilangan gelombang $1788,09\text{ cm}^{-1}$. Serapan khas kitosan terlihat pada bilangan gelombang 1648 cm^{-1} menunjukkan getaran tekuk N-H dari amina (-NH_2). Getaran tekuk N-H amina primer muncul pada daerah $1650\text{-}1580$ (Silverstein, dkk., 1981).

Menurut Kusumaningsih (2004), spektra FTIR (gambar 2.7) menginformasikan spektra kitosan 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 $\text{-CH}_2\text{-}$. Hilangnya gugus metil (-CH_3) yang terikat pada amida (-NHCOCH_3) dapat diketahui dari hilangnya serapan pada bilangan gelombang $2918,1\text{ cm}^{-1}$ serta hilangnya gugus C=O suatu amida (-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 (-NH_2) (Silverstein, dkk., 1981). Pita serapan pada bilangan $1039,6\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi ulur gugus -C-O- .



Gambar 2.7. Spektra FTIR kitosan (Kusumaningsih, 2004)

Karakteristik pita pada spektra FTIR kitosan hasil percobaan dimuat pada tabel 2.6, sedangkan spektra FTIR dari penelitian lain pada tabel 2.7.

Tabel 2.6. Karakteristik pita spektra FTIR kitosan hasil percobaan

Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Vibrasi
3641,76	Vibrasi ulur N-H amida primer
2852	Vibrasi ulur C-H alkana
1788,09	Vibrasi ulur C=O amida
1648	Vibrasi tekuk N-H amina primer

Tabel 2.7. Karakteristik pita spektra FTIR kitosan hasil penelitian lain

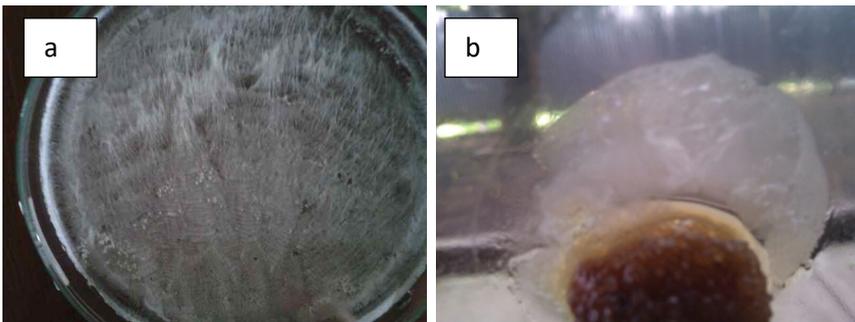
Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Vibrasi
3452,3	Vibrasi ulur N-H amida primer
2875,7	Vibrasi ulur C-H alkana
1647,1 dan 1637,5	Vibrasi ulur C=O amida
1629,7	Vibrasi tekuk N-H amina primer

Derajat deasetilasi dilakukan untuk mengetahui terbentuknya kitosan dari kitin. Derajat deasetilasi dapat dihitung dengan

metode *baseline* yang dirumuskan oleh Baxter. Adapun rumus derajat deasetilasi seperti persamaan (1). Berdasarkan rumus tersebut, didapatkan sebesar 79,42%. Nilai ini sesuai dengan derajat deasetilasi menurut Pujiastuti (2001) dalam Kusumaningsih (2004) yang menyatakan bahwa derajat deasetilasi kitin terhadap kitosan biasanya berkisar antara 70–100%.

5. Pembuatan *Edible Film*

Kitosan yang dihasilkan diaplikasikan dalam pembuatan *edible film*. *Edible film* kitosan, seperti gambar 2.8a, yang dihasilkan berupa lembaran tipis tak berwarna (transparan) dan kaku pada keadaan kering. *Edible film* tersebut diaplikasikan untuk bungkus permen, seperti pada gambar 2.8b.



Gambar 2.8. (a) *Edible film* dari kitosan cangkang bekicot dan (b) aplikasi *edible film* pada permen

C. Simpulan

Proses pengambilan kitin dari cangkang bekicot dapat dilakukan melalui dua tahap, yaitu deproteinasi dan demineralisasi. Rendemen yang dihasilkan pada deproteinasi 70,47% dan demineralisasi 25,27%. Pada deasetilasi kitin, cangkang bekicot menjadi kitosan, suhu memengaruhi rendemen kitosan yang dihasilkan. Pada kisaran suhu 50, 60, 70 80 dan 90°C dengan menggunakan NaOH 40% dan

direfluks selama 1 jam, kondisi optimum deasetilasi kitin terjadi pada suhu 90°C dengan rendemen sebesar 85%. Derajat deasetilasi kitosan yang optimum dihasilkan sebesar 79,42%. *Edible film* dari kitosan yang dihasilkan berupa lembaran tipis tak berwarna (transparan) dan kaku pada keadaan kering.

Daftar Pustaka

- Apriyanto, J., 2007, *Karakteristik Biofilm Dari Bahan Dasar Polivinil Alkohol (PVOH) Dan Kitosa*, Skripsi, Bogor: Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Astuti, B., 2008, *Pengembangan Edible Film Kitosan Dengan Penambahan Asam Lemak Dan Esensial Oil: Upaya Perbaikan SifatBarrier Dan Antimikrobia*, Skripsi, Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Fessenden, R.J. and Fessenden JS., 1989, *Kimia Organik*, Jilid 2, Edisi Ketiga, Jakarta: Erlangga.
- Azhar, M., Efendi, J., Syufyeni, E., Lesi, R. M., dan Novalina, S., 2001, Pengaruh Konsentrasi NaOH Dan KOH Terhadap Derajat Deasetilasi Kitin Dari Limbah Kulit Udang, *Eksakta*, Vol 1 Tahun XI, 1-8.
- Kusumaningsih, T., Masykur, A., dan Areif, U., 2004, Pembuatan Kitosan dari Kitin Cangkang Bekicot (*Achatina fullica*), *Biofarmasi*, Vol. 2, No. 2, 64-68.
- Megawati dan Ulinuha, A.Y., 2014, Ekstraksi Pektin Kulit Buah Naga (*Dragon Fruit*) dan Aplikasinya sebagai *Edible Film*, *JBAT*, Vol. 3, No. 1, 16-23.
- Pranoto, Y., 2007, Kajian Sifat Fisik-Mekanik dan Mikrostruktur Edible Film Alginat dan Kitosan dengan Penambahan Gliserol, *Prosiding Seminar Nasional PATPI*, Bandung 17-18 Juli 2007, TP-77.
- Prasetyo, K.W., 2004, *Khitosan, Pengendali Rayap Ramah Lingkungan*, Bogor: LIPI

- Puspawati, N. M. dan Simpen, I. N., 2010, Optimasi Deasetilasi Khitin dari kulit Udang Dan Cangkang Kepiting Limbah Restiran Seefood Menjadi Khitosa Melalui Variasi Konsentrasi NaOH, *Jurnal Kimia*, Vol. 4, No. 1, 79-90.
- Puspitasari, A., 2007, *Pembuatan Pemanfaatan Kitosa Sulfat Dari Cangkang Bekicot (Achatina fullica) Sebagai Adsorben Zat Warna Remazol Yellow FG 6*, Skripsi, Surakarta: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret.
- Rahmadani, Susanti, D., Soripada, T. A., Silaban, R., 2011, *Pemanfaatan Kitosa Dari Limbah Cangkang Bekicot Sebagai Adsorben Logam Tembaga*, Laporan Penelitian, Medan: Universitas Negeri Medan.
- Rakhmawati, E., 2007, *Pemanfaatan Kitosa Hasil Deasetilasi Kitin Cangkang Bekicot Sebagai Adsorben Zat warna Remazol Yellow*, Skripsi, Surakarta: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret.
- Ramadhan, L. O. A. N., Radiman, C. L., dan Wahyuningrum, D., 2010, Deasetilasi Kitin Secara Bertahap dan Pengaruhnya Terhadap Derajat Deasetilasi serta Massa Molekul Kitosa, *Jurnal Kimia Indonesia*, Vol. 5, No. 1, 17-21.
- Samar, M. M., El-Kalyoubi, M. H., Khalaf, M. M., and El-Razik, Abd., 2013, Physicochemical, Funtional, Antioxidant And Antibacterial Properties Of Chitosa Extracted From Shrimp Wates By Microwave Technique, *Annals of Agricultural Science*, Vol. 58, No. 1, 33-41.
- Sastrohamidjojo, H., 2019, *Dasar-dasar Spektroskopi*, UGM Press, Yogyakarta.
- Silverstein, M., Bassler, G. C., and Morrill, T. C., 1986, *Spectrometric Identification of Organic coumpounds*, 5th ed., Willey Intercine Publication, John Willey & Sons, Singapura.