

Isolasi dan Identifikasi Kitosan dari Cangkang Kreca (*Bellamyja javanica*) dengan Spektroskopi Inframerah

Isolation and Identification of Chitosan Bellamyja javanica using Infrared Spectroscopy

Prisma Trida Hardani*, Dewi Perwito Sari, Asti Rahayu

Prodi Farmasi, Fakultas Sains dan Kesehatan, Universitas PGRI Adi Buana Surabaya

Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Kesehatan, Universitas PGRI Adi Buana, Surabaya

Received: 01/9/2021

Accepted: 23/9/2021

Published: 30/9/2021

*Korespondensi: prismath@unipasby.ac.id

Abstract

Bellamyja javanica is an animal in the gastropod class that contains compounds such as calcium, chitin, protein and minerals. Chitosan from shells is generally obtained from deacetylation of chitin by alkaline hydrolysis. The method used to obtain chitosan includes deproteination, demineralization, and deacetylation, then the results obtained from the analysis by FT-IR. The results showed that the yield of chitosan produced from the shell of kreca (*Bellamyja javanica*) was 10.768%. The degree of deacetylation of chitosan from kreca shell was 84%. The results of the characterization by spectroscopy showed that the extracted compound was chitosan.

Keyword: *Bellamyja javanica*; Isolation; Chitosan

Abstrak

Bellamyja javanica atau yang lebih dikenal dengan nama kreca merupakan hewan dalam kelas gastropoda yang mengandung senyawa seperti kalsium, kitin, protein dan mineral. Kitosan dari cangkang umumnya diperoleh dari deasetilasi kitin dengan hidrolisis basa. Metode yang dilakukan untuk memperoleh kitosan meliputi deproteinasi, demineralisasi, dan deasetilasi, kemudian hasil yang diperoleh di analisis dengan FT-IR. Hasil penelitian menunjukkan rendemen kitosan yang dihasilkan dari cangkang kreca (*Bellamyja javanica*) adalah 10,768%. Derajat deasetilasi kitosan dari cangkang kreca adalah 84%. Hasil karakterisasi dengan spektroskopi inframerah menunjukkan bahwa senyawa hasil ekstraksi yang diperoleh adalah kitosan.

Kata kunci: *Bellamyja javanica*; Isolasi; Kitosan

PENDAHULUAN

Bellamyja javanica atau yang lebih dikenal dengan nama kreca merupakan hewan dalam kelas gastropoda yang dapat dikonsumsi manusia. Bagian cangkang kreca mengandung senyawa seperti kalsium, kitin, protein dan mineral (Hossain and Aditya, 2013; Indriani et al., 2018). Gastropoda ini juga telah banyak menjadi subjek penelitian oleh beberapa peneliti.

Kitin dan kitosan di alam tidak terdapat dalam keadaan bebas, akan tetapi

berikatan dengan protein, mineral, dan berbagai macam pigmen. Kitin merupakan mukopolisakarida alami yang mempunyai sifat sangat hidrofobik, tidak larut dalam air dan kebanyakan pelarut organik (Dutta et al., 2004). Kitin didapatkan melalui beberapa proses secara umum yaitu demineralisasi dan deproteinasi, kemudian kitosan umumnya diperoleh dari deasetilasi kitin dengan hidrolisis basa. Kitosan (Poli-(1.4)--2-Amino-2--deoksi-D--glukosa) merupakan heteropolisakarida turunan

kitin yang tersusun dari D--glukosamin dan N--asetil-D--glukosamin (Li et al., 2013). Kitosan berbentuk serbuk berwarna putih atau hampir putih dan tidak memiliki bau, tidak dapat larut dalam pelarut organik, air dan larutan basa. Larut setelah diaduk pada pelarut asam asetat (de Alvarenga, 2011). Serbuk kitosan stabil pada suhu kamar, walaupun higroskopis setelah pengeringan. Kitosan harus disimpan pada wadah tertutup rapat di tempat sejuk dan kering pada suhu 2-8°C (Rowe et al., 2009). Setelah proses isolasi, dilakukan identifikasi kitosan dengan menggunakan spektroskopi inframerah. Spektroskopi inframerah digunakan untuk menentukan struktur terutama gugus fungsi senyawa organik (Barroroh et al., 2019)

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi senyawa kitosan dari cangkang kreca (*Bellamyja javanica*) serta melakukan identifikasi senyawa kitin dan kitosan dengan menggunakan spektroskopi inframerah.

METODE PENELITIAN

Deproteinasi

Serbuk cangkang *Bellamyja javanica* ditambahkan NaOH 4% ke dalam Erlenmeyer dengan perbandingan serbuk cangkang : NaOH 4% (1:20 (b/v)). Campuran di aduk menggunakan *hotplate stirer* selama 2 jam pada suhu 65°C dengan kecepatan 400 rpm. Campuran tersebut kemudian disaring, residu yang diperoleh dicuci dengan aquadem hingga pH netral dan dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama ±24 jam, kemudian ditimbang (Hardani et al., 2021)

Demineralisasi

Demineralisasi dilakukan pada serbuk hasil deproteinasi. Tahapan ini dilakukan dengan penambahan HCl 1M ke dalam erlenmeyer yang berisi serbuk hasil deproteinasi dengan perbandingan serbuk : HCl 1 M (1:15 (b/v)). Campuran di

aduk menggunakan *hot plate stirer* dengan kecepatan 200 rpm pada suhu ruang selama 30 menit. Kemudian campuran di saring dan residu yang diperoleh dicuci menggunakan aquadem hingga diperoleh pH netral. Residu dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama ±24 jam, kemudian ditimbang. Tahap ini di ulangi sebanyak tiga kali. Kitin yang dihasilkan diidentifikasi dengan FTIR dibandingkan dengan standarnya (Hardani et al., 2021)

Deasetilasi

Serbuk kitin yang dihasilkan proses demineralisasi ditambahkan dengan NaOH 60% ke dalam labu alas bulat dengan perbandingan serbuk dan pelarut NaOH 60% yaitu 1:10 (b/v). Selanjutnya di *reflux* dengan kecepatan konstan selama 60 menit pada suhu 120°C. Selanjutnya campuran di saring dan residu dicuci dengan akuades hingga didapatkan pH netral dan residu dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama ±24 jam, kemudian ditimbang (Hardani et al., 2021)

Perhitungan Derajat Deasetilasi

Hasil kitosan yang diperoleh dari reaksi deasetilasi dianalisis dengan FTIR untuk mengidentifikasi gugus fungsi pada daerah bilangan gelombang 4500-400 cm⁻¹, kemudian dihitung nilai derajat deasetilasinya dengan menggunakan rumus:

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

Keterangan:

%DD : persentase derajat deasetilasi

A₁₆₅₅ : absorbansi pada bilangan gelombang 1655 cm⁻¹

A₃₄₅₀ : absorbansi pada bilangan gelombang 3450 cm⁻¹

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Kitosan Cangkang Kreca

Proses isolasi kitin dan kitosan diawali dengan menyiapkan cangkang kreca. Cangkang kreca yang sudah dideterminasi dan dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel dengan menggunakan air mengalir. Cangkang kreca yang sudah dibersihkan kemudian dikeringkan dengan oven menggunakan suhu 50-60 °C selama 24 jam. Setelah kering, cangkang diperkecil ukuran partikelnya dengan menggunakan blender menghasilkan serbuk cangkang kreca.

Untuk mengisolasi kitosan, tahap pertama yang dilakukan yaitu tahap deproteinasi menggunakan NaOH 4% dengan perbandingan 1:20 (b/v) selama 2 jam pada suhu 65°C. Pada tahap deproteinasi, cangkang kreca ditimbang sebanyak 50 g kemudian ditambahkan larutan NaOH 4% sebanyak 500 ml. campuran tersebut di aduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah dua jam, proses pengadukan dihentikan, kemudian dilakukan penyaringan dan pembilasan hingga pH larutan menjadi netral. Setelah netral, filtrat yang didapatkan dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Pada tahap ini didapatkan berat randemen rata-rata sebanyak 47,72 g. Tahap deproteinasi dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan protein yang terkandung di dalam cangkang kreca. Pada proses ini, pelarut NaOH menjadi keruh setelah tercampur dengan serbuk cangkang (Hardani et al., 2021)

Tahap selanjutnya untuk memperoleh kitin yaitu tahap demineralisasi menggunakan HCl dengan perbandingan 1:15 (b/v) selama 30 menit pada suhu ruang. Filtrat yang didapatkan dari proses deproteinasi ditambahkan HCl sebanyak 500 ml. campuran tersebut di aduk dengan *magnetic stirrer*. Setelah 30 menit, proses pengadukan dihentikan dan dilakukan penyaringan dan pembilasan

hingga pH larutan menjadi netral. Setelah netral, filtrat yang didapatkan dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Tahap demineralisasi dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan mineral dan garam-garam organik yang terkandung di dalam cangkang kreca. Kandungan mineral yang terkandung pada cangkang jenis Mollusca adalah CaCO₃ dan Ca(PO₄)₂. Mineral-mineral tersebut akan bereaksi dengan HCl menghasilkan kalsium klorida yang dapat larut dalam air (Umarudin and Surahmida, 2019), proses ini ditandai dengan munculnya gelembung-gelembung kecil seperti buih, banyaknya gelembung yang muncul menandakan banyaknya kandungan mineral yang terkandung didalam sampel cangkang. Hal ini juga dibuktikan dengan berat randemen rata-rata yang didapatkan dari proses demineralisasi yaitu sebesar 11,769 g. Serbuk yang dihasilkan dari proses deproteinasi dan demineralisasi, diuji dengan menggunakan FTIR untuk melihat gugus-gugus fungsi yang terbentuk dari kedua proses tersebut.

Terdapat dua jenis kitin yang terdapat di alam, yaitu alfa kitin dan beta kitin. Alfa kitin didapatkan bila sumber yang digunakan berasal dari famili krustasea, sedangkan beta kitin yang didapatkan dari famili moluska seperti tulang rawan cumi-cumi (Abdou et al., 2008). Pada penelitian ini menggunakan kreca sebagai sumber kitosan. Kreca (*Bellamyja javanica*) masuk ke dalam famili moluska sehingga kitin yang dihasilkan adalah jenis beta kitin. Beta kitin memiliki kelarutan, afinitas dan reaktivitas yang lebih baik dibandingkan dengan alfa kitin.

Serbuk hasil dari proses deproteinasi dan demineralisasi selanjutnya dilakukan proses deasetilasi untuk memperoleh kitosan. Pada proses ini randemen di campurkan dengan pelarut NaOH 60% pada suhu 120 °C selama 60 menit. Pada proses ini, terjadi pemutusan ikatan antara kation dengan nitrogen pada gugus asetil

kitin menjadi gugus asam amino. Banyaknya gugus asetil yang berubah menjadi gugus asam amino dinyatakan dengan derajat deasetilasi (DD) yang menjadi salah satu parameter kualitas dari produk kitosan yang dihasilkan. Proses ini

menghasilkan berat randemen rata-rata sebesar 5,391g. Untuk mengetahui gugus apa saja yang terbentuk dilakukan uji dengan menggunakan FTIR. Hasil randemen setiap tahapan proses dapat dilihat pada Tabel 1.

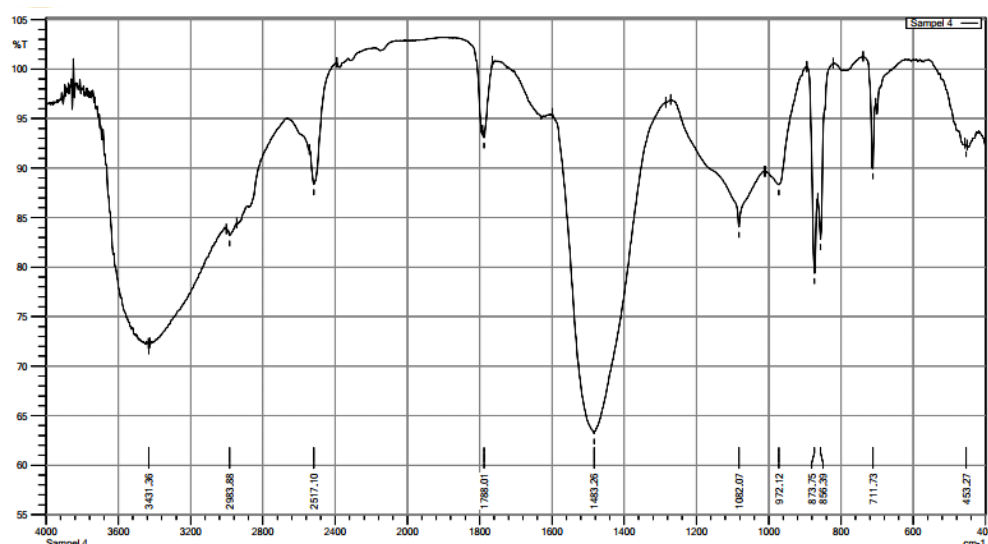
Tabel 1. Berat Randemen yang dihasilkan pada setiap proses

Sampel	Penimbangan Awal (g)	Hasil Proses Deproteinasi (g)	Hasil Proses Demineralisasi (g)	Hasil Proses Deasetilasi (g)
Replikasi 1	50,076	47,921	11,739	5,362
Replikasi 2	50,047	47,519	11,798	5,419
Rata-Rata±SD	50,062±0,015	47,72±0,201	11,769±0,029	5,391±0,029

Pada Tabel diatas diketahui persen randemen dari berat awal serbuk cangkang yang ditimbang (50,062 g) yaitu 95,44% dari tahap deproteinasi (47,72 g) 23,516% dari tahap demineralisasi (11,798 g) dan 10,768% dari tahap deasetilasi (5,391 g). Penyusutan berat ini adalah hasil dari reaksi-reaksi kimia yang terjadi pada ketiga proses (deproteinasi, demineralisasi dan deasetilasi) menghilangkan protein dan mineral yang terdapat pada cangkang kreca.

Mutu kitosan yang didapatkan dari ketiga proses tersebut yaitu terbentuk kitosan dengan bentuk serbuk berwarna putih kecoklatan, dengan kelarutan tidak

larut dalam air namun larut dalam asam asetat. Pada Uji FTIR didapatkan data yaitu terlihat pita serapan gugus OH ditunjukkan pada puncak 3431.36, pita serapan C-H ulur terlihat pada puncak 2983.88, pita serapan C=O ulur terlihat pada puncak 1640.02, pita serapan C-O-C terlihat pada puncak 1082.07. Sinardi et al. (2013) melakukan isolasi kitosan pada sampel cangkang bekicot dan didapatkan hasil uji FTIR yaitu pita serapan gugus OH ditunjukkan pada puncak 3452.3, pita serapan C-H ulur terlihat pada puncak 2875.7, pita serapan C=O ulur terlihat pada puncak 1647.1, pita serapan C-O-C terlihat pada puncak 1039.6.



Gambar 1. Spektrum FTIR kitosan dari bahan baku sampel cangkang kreca

Proses terjadinya reaksi deasetilasi kitin menjadi kitosan dapat dihitung berdasarkan spektra infra merah. Perhitungan derajat deasetilasi dari spektra infra merah kitosan dilakukan dengan cara membandingkan absorbansi pada bilangan gelombang untuk gugus amida $-NHCO$ (1650 cm^{-1} - 1500 cm^{-1}) dengan absorbansi pada bilangan gelombang untuk gugus amina primer $-NH_2$ (3500 cm^{-1} - 3200 cm^{-1}). Pada proses deasetilasi kitin yang sempurna, nilai absorbansi (A) untuk vibrasi gugus amida adalah 1,33 (Dompeipen, 2017)

Pada penelitian ini berdasarkan perbandingan tersebut diperoleh derajat deasetilasi kitosan yang diperoleh adalah sebesar 84%. Menurut Baxter dkk (1992) dalam Dompeipen (2017) menjelaskan bahwa jika derajat deasetilasi $<60\%$, maka polimer disebut kitin dan apabila derajat deasetilasi $>60\%$, maka polimer disebut kitosan.

KESIMPULAN

Kitosan dapat diisolasi dari cangkang kreca (*Bellamya javanica*) melalui tahapan deproteinasi, demineralisasi dan deasetilasi. Rendemen kitosan yang dihasilkan adalah 10,768%. Derajat deasetilasi kitosan dari cangkang kreca adalah 84%. Hasil karakterisasi dengan spektroskopi inframerah menunjukkan bahwa senyawa hasil ekstraksi yang diperoleh adalah kitosan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdou, E.S., Nagy, K.S.A., Elsabee, M.Z., 2008. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. *Bioresource Technology* 99, 1359–1367. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.051>
- Barroroh, H., Rifai, D.N.R., Jannah, A., 2019. Isolation and Identification of Chitin and Chitosan Horseshoe Crab Shrimp Shell Using Infrared Spectroscopy. *International Journal of Engineering* 8, 6.
- de Alvarenga, E.S., 2011. Characterization and properties of chitosan. *Biotechnology of biopolymers* 91, 48–53.
- Dompeipen, E.J., 2017. Udang Windu (*Penaeus monodon*) Dengan Spektroskopi Inframerah 11.
- Dutta, P.K., Dutta, J., Tripathi, V.S., 2004. Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications.
- Hardani, P.T., Sugijanto, N.E.N., Kartosentono, S., 2021. Heavy metals bioremediation by shells dust and chitosan derived from *Belamya javanica* Snail, an Eco-friendly biosorbent. *Research Journal of Pharmacy and Technology* 14, 1555–1560. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2021.00274.2>
- Hossain, A., Aditya, G., 2013. Cadmium biosorption potential of shell dust of the fresh water invasive snail *Physa acuta*. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 1, 574–580.
- Indriani, Y., Iswadi, Fuadi, N., 2018. Pemanfaatan Limbah Cangkang Keong Sawah 5, 13.
- Li, B., Zhang, J., Bu, F., Xia, W., 2013. Determination of chitosan with a modified acid hydrolysis and HPLC method. *Carbohydrate research* 366, 50–54.
- Rowe, R.C., Sheskey, P., Quinn, M., 2009. Handbook of pharmaceutical excipients. Libros Digitales-Pharmaceutical Press.
- Umarudin, U., Surahmaida, S., 2019. Isolasi, Identifikasi, Dan Uji Antibakteri Kitosan Cangkang Bekicot (*Achatina fulica*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dari Penderita Ulkus Diabetikum. *SIM-BIO* 8, 37. <https://doi.org/10.33373/sim-bio.v8i1.1894>