Jurnal Mahasiswa
Vol.7, No.1 Maret 2025
e-ISSN: 2962-2891; p-ISSN: 2962-2883, Hal 40-56
DOI 10.51903/jurnalmahasiswa.v7i1.983

Ekstraksi Kitin Dan Kitosan Tulang Sotong Menggunakan Teknologi Microwave

Muhammad Fakhrudin Zukhri[1], Putri Elvita Dewi[2], Joshfira Eurika Widianto[3], Siti Masruroh[4]

[1]Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Indonesia
[2]Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Indonesia
[3]Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Indonesia
[4]Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Indonesia
mfzfakhrudin@gmail.com[1]

Alamat: Jl. Raya ITS, Sukolilo Surabaya 60111
Korespondensi penulis: mfzfakhrudin@gmail.com

Abstract.*The increasing production within the seafood processing industry has resulted in a significant rise in the volume of marine waste. A major component of this waste is chitin, which can be derived from the shells of shrimp, crabs, and other marine organisms. This offers substantial potential for processing marine waste into high-value products such as chitosan. Chitosan exhibits numerous physiological functions, including biodegradability, biocompatibility, non-toxicity, anticancer properties, lipid-lowering effects, and immune-enhancing capabilities. This study aims to extract chitin and chitosan from cuttlefish bone waste using microwave irradiation methods and to evaluate the effectiveness of microwave irradiation in improving the efficiency and quality of chitin and chitosan extraction compared to conventional methods. The extracted chitin and chitosan were analyzed and characterized using Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) to identify functional groups and UV-Vis spectrophotometry. The FTIR analysis results demonstrated the successful deacetylation of chitin into chitosan. This was marked by a broad peak in the range of 3200–3500 cm^{-1}, representing the stretching vibrations of hydroxyl (-OH) and amine (-NH) groups. The peak at 2922 cm^{-1} corresponded to C-H vibrations from methyl (-CH) and methylene ($-CH_2$) groups. The reduction in the intensity of the carbonyl (C=O) peak at 1650 cm^{-1} indicated the removal of most acetyl groups, while the peak at 1560 cm^{-1} suggested the presence of primary amine ($-NH_2$) groups, which are characteristic of chitosan's structure. These findings highlight the potential of microwave irradiation as an effective method for the extraction of high-quality chitosan from marine waste, providing a sustainable solution for waste utilization in the seafood processing industry. Further investigations could explore the optimization of microwave parameters to enhance the yield and functional properties of chitosan for various applications.*

Keywords: *Chitosan, Deacetilation, Microwave*

Abstrak. Meningkatnya produksi dalam industri pengolahan makanan laut telah menyebabkan bertambahnya volume limbah laut secara signifikan. Salah satu komponen utama limbah tersebut adalah kitin. Kitin dapat dimanfaatkan dari limbah cangkang udang, kepiting, dan organisme laut lainnya, sehingga berpotensi besar untuk diolah menjadi produk bernilai seperti kitosan, Kitosan memiliki banyak fungsi fisiologis seperti biodegradabilitas, biokompatibilitas, tidak beracun, antikanker, penurun lipid, peningkatan kekebalan tubuh. penelitian ini bertujuan untuk mengekstraksi chitin dan *chitosan* dari limbah tulang sotong menggunakan metode microwave irradiation dan mengevaluasi efektivitas metode *microwave* dalam meningkatkan efisiensi dan kualitas ekstraksi chitin dan chitosan dibandingkan dengan metode konvension. Hasil sintesis *chitin* dan *chitosan* yang dilakukan analisa dan karakterisasi dengan FTIR untuk mengidentifikasi

Received June 15, 2024; Accepted November 18, 2024; Published March 16, 2024
*Muhammad Fakhrudin Zukhri, *mfzfakhrudin@gmail.com*

gugus fungsional pada kitin dan kitosan dan spektrofotometer UV-VIS. Hasil analisis FT-IR menunjukkan keberhasilan proses deasetilasi kitin menjadi kitosan. Hal ini ditandai dengan puncak lebar pada 3200–3500 cm^{-1} yang mencerminkan vibrasi peregangan gugus hidroksil (-OH) dan amin (-NH), serta puncak pada 2922 cm^{-1} yang menunjukkan vibrasi C-H dari gugus metil (-CH) dan metilen ($-CH_2$). Penurunan intensitas puncak karbonil (C=O) pada 1650 cm^{-1} menandakan hilangnya sebagian besar gugus asetil, sementara puncak pada 1560 cm^{-1} mengindikasikan keberadaan gugus amin primer ($-NH_2$) yang menjadi ciri khas struktur kitosan.

Kata Kunci: Kitosan, Deasetilasi, *Microwave*

PENDAHULUAN

Bahan berbasis kitin dan kitosan telah banyak digunakan dalam berbagai kemajuan ilmiah, khususnya di bidang nanoteknologi karena potensi terapeutiknya (Badar, Zahid, & Yar, 2021). Sumber utama bahan baku untuk produksi kitin adalah kutikula berbagai krustasea, terutama kepiting dan udang. Pada krustasea atau lebih khusus kerang, kitin ditemukan sebagai komponen jaringan kompleks dengan protein di atas kalsium karbonat untuk membentuk cangkang yang kaku. Dengan demikian, isolasi kitin dari kerang memerlukan penghilangan dua komponen utama cangkang, protein melalui deproteinisasi dan kalsium karbonat anorganik melalui demineralisasi (Younes & Rinaudo, 2015). Dalam pemrosesan industri, kitin diekstraksi dengan perlakuan asam untuk melarutkan kalsium karbonat diikuti dengan larutan alkali untuk melarutkan protein. Selain itu, langkah dekolorisasi sering ditambahkan untuk menghilangkan pigmen dan memperoleh kitin murni yang tidak berwarna. Semua perlakuan tersebut harus disesuaikan dengan sumber kitin, karena perbedaan ultrastruktur bahan awal untuk menghasilkan kitin berkualitas tinggi terlebih dahulu, dan kemudian kitosan (setelah deasetilasi parsial) (Younes & Rinaudo, 2015).

Kitin dapat diubah menjadi kitosan melalui persiapan enzimatik atau proses kimia. Kitosan merupakan biopolimer linier alami yang berasal dari kitin dengan komponen struktural utama ditemukan pada rangka luar krustasea, serangga, dan dinding sel jamur. Secara kimia, kitosan terdiri dari unit-unit N-asetil-D-glukosamin (GlcNAc) dan D-glukosamin (GlcN) yang terdistribusi secara acak yang terikat β-(1→4) (Khubiev, et al., 2023). Kitin, yang umumnya ditemukan dalam limbah cangkang udang, kepiting, dan hewan bercangkang lainnya, dapat diubah menjadi kitosan melalui proses deasetilasi. Teknologi microwave dapat digunakan sebagai alternatif yang sangat baik untuk pemanasan termal konvensional karena memberikan beberapa keunggulan dibandingkan metode konvensional, seperti mempercepat waktu reaksi, meningkatkan hasil, dan mengurangi konsumsi energi. Selain itu, teknologi microwave dapat sangat efektif untuk depolymerisasi kitosan, selulosa dan biopolimer lainnya, dapat digunakan sebagai metode yang efektif untuk menghasilkan kitosan dengan berat molekul rendah (Knidri, Dahmani, Addaou, Laajeb, & Lahsini, 2019).

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan ekstraksi chitin dan chitosan dari limbah tulang sotong menggunakan metode microwave irradiation dan mengevaluasi efektivitas metode microwave dalam meningkatkan efisiensi dan kualitas ekstraksi chitin dan chitosan dibandingkan dengan metode konvension. Hasil sintesis chitin dan chitosan yang dilakukan analisa dan karakterisasi dengan TGA (Thermogravimetric Analysis) untuk mengukur mengukur stabilitas termal kitin dan kitosan, FTIR (Fourier-Transform Infrared Spectroscopy) untuk mengidentifikasi gugus fungsional yang ada dalam kitin dan kitosan, XRD (X-ray Diffraction) untuk menentukan tingkat kristalinitas kitin dan kitosan, SEM (Scanning Electron Microscopy) untuk mengamati morfologi permukaan kitin dan kitosan, dan Molecular Weight untuk menentukan berat molekul kitin dan kitosan.

METODE PENELITIAN

Proses persiapan dan ekstraksi kitosan dilakukan melalui beberapa tahapan, yaitu *pretreatment*, demineralisasi, deproteinase, deasetilasi, dan karakterisasi. Pada tahap *pretreatment*, sebanyak 250 gram sampel tulang sotong direndam dalam air mendidih secara berulang hingga kotoran hilang, dicuci dengan aquadest, dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 12 jam, kemudian dihancurkan menggunakan mortar dan alu, serta disaring dengan sieve berukuran 200 μm. Tahap demineralisasi dilakukan dengan menimbang 50 gram sampel kering, mencampurkannya dengan larutan HCl 3N (1/10 w/v), lalu memanaskan dalam microwave dengan daya 600 W selama 8 menit. Campuran difiltrasi menggunakan pompa vakum, residu dicuci dengan aquadest hingga bersih, dikeringkan pada suhu 80°C selama 12 jam, dan berat residu dicatat (minimal 25 gram). Pada tahap deproteinase, residu hasil demineralisasi dicampur dengan larutan NaOH 10% (1/10 w/v), dipanaskan dalam microwave pada daya 600 W selama 3 menit, difiltrasi, dicuci dengan aquadest hingga netral, dikeringkan pada suhu 80°C selama 12 jam, dan berat residu dicatat (minimal 20 gram). Tahap deasetilasi melibatkan pencampuran residu dengan larutan NaOH 30% dan gliserol 70% (1/20 w/v), dipanaskan dalam microwave pada daya 800 W selama 2 menit, difiltrasi, dicuci hingga netral, dikeringkan pada suhu 80°C selama 12 jam, dan berat residu dicatat. Terakhir, kitosan yang dihasilkan dikarakterisasi menggunakan TGA (Thermogravimetric Analysis), FTIR (Fourier-Transform Infrared Spectroscopy), XRD (X-ray Diffraction), SEM (Scanning Electron Microscopy), dan penentuan berat molekul untuk mengevaluasi sifat struktural, termal, dan fisik kitosan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Sintesis Kitosan

Tabel 1. Hasil Yield Kitosan

Massa Kitin	Massa Kitosan
100 gram	3,7 gram

Tabel 2. Hasil Pengujian Spektrofotometer UV-VIS

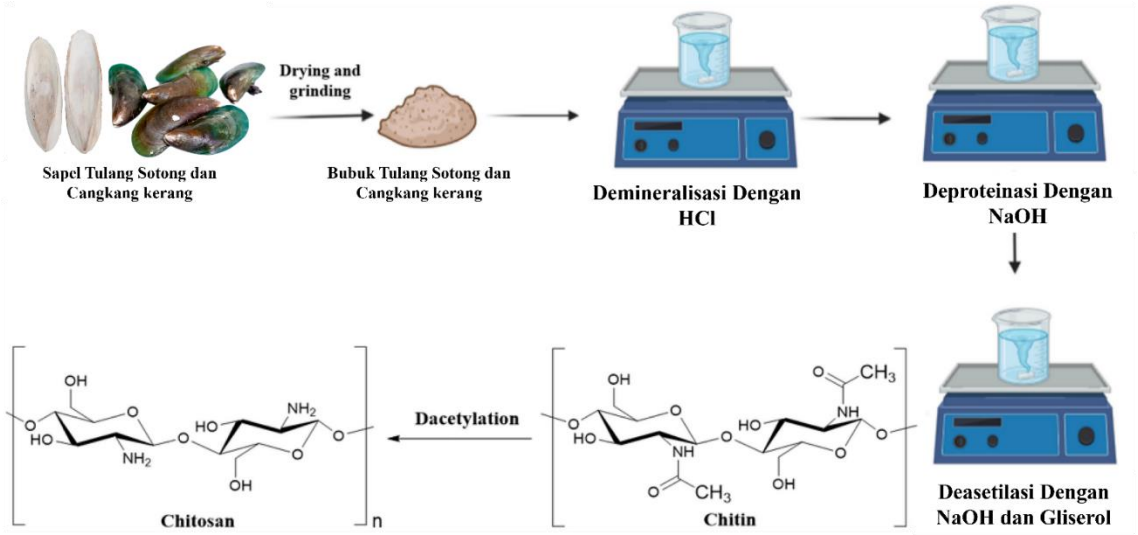
Wavelength (nm)	Absorbance	Wavelength (nm)	Absorbance
238	3.224	214	3.462
235	3.914	208	3.547
232	4.724	206	3.593
228	3.808	204	3.732
226	3.645	202	3.713
224	3.637	200	3.598
222	3.613	197	3.812
217	3.765	193	3.622

Tabel 3. Hasil Pengujian Gugus Fungsi Dengan FTIR

Peak Number	Wavenumber (cm^{-1})	Intensity
1	1028.7	61.549
2	1312.0	77.997
3	1423.8	77.845
4	1558.0	76.826
5	1632.6	78.197
6	2124.6	94.052
7	2922.2	86.721
8	3257.7	80.049

Pembahasan

Proses sintesis kitosan sampel tulang sotong dan kerang hijau dilakukan sesuai dengan prosedur di bawah ini:



Gambar 1. Prosedur Sintesis Kitosan (Sumber: Dokumen Pribadi)

Proses *pre-treatment* dimulai dengan menyiapkan sampel kitosan sebanyak 250 gram sebagai bahan awal. Sampel kemudian direndam beberapa kali dengan air mendidih untuk menghilangkan kotoran dan pengotor yang menempel. Setelah itu, sampel dicuci menggunakan aquadest untuk memastikan residu kimia yang tertinggal dari proses perendaman benar-benar hilang. Sampel yang telah bersih kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 12 jam untuk menghilangkan kadar air sehingga mempermudah proses selanjutnya. Sampel kering dihancurkan menggunakan mortar dan alu untuk memperkecil ukuran partikel, meningkatkan homogenitas, dan memudahkan pemrosesan lebih lanjut. Sampel disaring menggunakan sieve berukuran 200 μm untuk mendapatkan ukuran partikel yang seragam dan memenuhi spesifikasi standar.

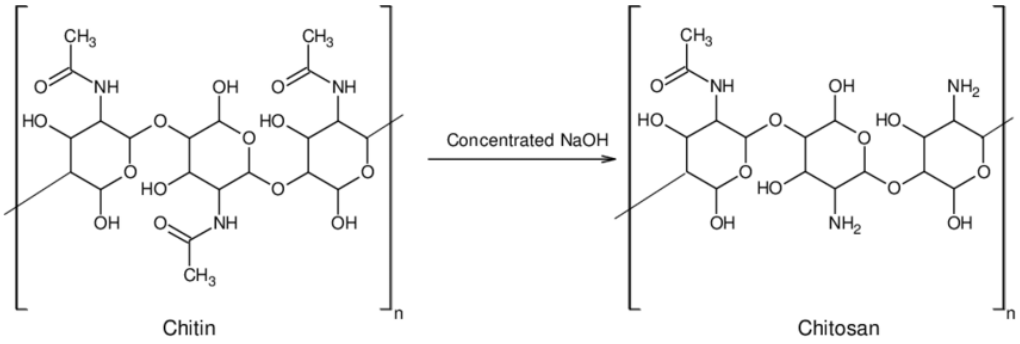
Selanjutnya dilakukan proses demineralisasi untuk menghilangkan kandungan mineral, seperti kalsium karbonat, dari kitosan atau prekursor kitosan seperti kitin. Pada proses demineralisasi, sampel sebanyak 50 gram ditimbang dan ditempatkan dalam gelas beaker, kemudian ditambahkan larutan HCl 3N dengan perbandingan massa/volume 1/10 (w/v). Penimbangan awal memastikan jumlah bahan baku yang digunakan sesuai dengan rasio larutan asam yang akan ditambahkan. Berat awal juga menjadi dasar untuk menghitung efisiensi demineralisasi (Rasweefali , et al., 2022). Asam klorida (HCl) digunakan untuk melarutkan mineral, terutama kalsium karbonat ($CaCO_3$) yang banyak terdapat dalam kitin (Shaqsi, Hoqani, Hossain, & Sibani, 2020). Reaksi utama yang terjadi sebagai berikut:

$$CaCO_{3(s)} + 2HCl_{(aq)} \rightarrow CaCl_{2(aq)} + CO_{2(g)} + H_2O \quad \text{.....(1)}$$

Penggunaan HCl 3N pada proses demineralisasi merupakan konsentrasi optimum untuk melarutkan kalsium karbonat dengan efisien tanpa merusak struktur organik kitosan. Berdasarkan penelitian Sari, Mumpuni, & Purwanggana, (2024), melakukan penelitian pengaruh konsentrasi *Hydrochloric Acid* (HCl) dengan konsentrasi 1M, 2M, dan 3M untuk proses demineralisasi yang menunjukkan bahwa demineralisasi dengan *Hydrochloric Acid* (HCl) pada konsentrasi 3M menunjukkan hasil paling optimum dalam menurunkan kadar kalsium sebesar 97,75%. Hal ini menyebabkan terjadi peningkatan keberhasilan proses demineralisasi seiring dengan peningkatan konsentrasi *Hydrochloric Acid* (HCl) yang digunakan, sehingga mengakibatkan penurunan viskositas produk akhir (Sari, Mumpuni, & Purwanggana, 2024). Proses pemisahan mineral pada proses demineralisasi dtandai dengan timbulnya gelembung gas CO_2 dan H_2O yang mudah hilang yang merupakan hasil reaksi pemisahan mineral. Selain itu, teradapat tiga lapisan selama proses demineralisasi, yaitu endapan cangkang berwarna coklat kehitaman, endapan putih halus, dan fase cair pelarut (Pratiwi, Utami, & Damayanti, 2022). Setelah proses demineralisasi, campuran tersebut dipanaskan dalam *microwave* pada daya 600 W selama 8 menit, lalu difiltrasi

menggunakan pompa distilasi vakum untuk memisahkan residu dari larutan. Residu dicuci dengan aquadest hingga bersih, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 12 jam. Setelah kering, residu ditimbang dan dicatat berat akhirnya, dengan hasil minimal 25 gram. Selanjutnya, sampel dilakukan proses deproteinase untuk menghilangkan protein yang masih terikat pada biomaterial hasil demineralisasi (Kozma, Acharya, & Bissessur, 2022). Deproteinisasi merupakan tahap penting dalam proses pemurnian kitin yang umumnya dilakukan dengan larutan alkali atau reagen kimia lainnya. Natrium hidroksida (NaOH) paling sering digunakan karena kemampuannya yang efektif untuk memutus ikatan antara kitin dan protein, sehingga memungkinkan penghilangan protein atau hidrolisis biopolimer (Hosney, Ullah, & Barčauskaitė, 2022). Protein merupakan komponen organik yang dapat memengaruhi sifat kimia dan mekanis material jika tidak sepenuhnya dihilangkan, terutama dalam aplikasi medis atau industri (Stie, Kalouta, Vetri , & Foderà , 2022). Penghilangan protein meningkatkan kemurnian kitin sebagai prekursor, sehingga menghasilkan material yang lebih stabil secara kimia dan termal (Kim & Park, 2024). Langkah pertama adalah mencampurkan bahan hasil demineralisasi dengan larutan NaOH 10% dalam perbandingan massa/volume (1/10 w/v) ke dalam gelas beaker. Penambahan larutan NaOH 10% berfungsi sebagai agen denaturasi protein, memecah ikatan protein sehingga mudah terlepas dari matriks bahan. Konsentrasi alkali, suhu reaksi, dan waktu pemulihan adalah faktor utama proses deproteinisasi. Penghapusan protein yang tidak lengkap mempengaruhi kualitas kitin dan kitosan (Hosney, Ullah, & Barčauskaitė, 2022). Selanjutnya, gelas beaker yang berisi campuran dipanaskan menggunakan microwave pada daya 600 W selama 3 menit. Setelah pemanasan selesai, campuran difiltrasi menggunakan pompa distilasi vakum. Pemanasan dengan microwave pada daya tertentu mempercepat proses denaturasi dan dekomposisi protein melalui peningkatan energi kinetik dan agitasi molekul. Teknologi pemanasan *microwave* telah menjadi subjek penelitian dalam proses ekstraksi kitosan, terutama pada tahap deasetilasi kitin. Cheng, Zhu, Huang, Zhao, & Yan, (2020) menyelidiki penggunaan pemanasan microwave pada tahap akhir proses ekstraksi kitosan, sedangkan Sebastian, Rouissi, & Brar, (2019) memanfaatkan metode yang sama untuk mengonversi kitin menjadi kitosan. Berdasarkan studi Nouri, Khodaiyan, Hadi Razavi, & Mousavi, (2016), pemanasan microwave terbukti efektif dalam menyiapkan kitosan dan meningkatkan hasil kitosan ketika dilakukan pada kondisi yang optimal (Dong, et al., 2023). Residu yang dihasilkan kemudian dicuci menggunakan aquadest hingga netral. Residu yang telah dicuci dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 12 jam. Terakhir, hasil residu yang telah dioven ditimbang dan dicatat, dengan berat minimal yang diharapkan adalah 20 gram. Proses pencucian menggunakan aquadest hingga pH netral memastikan penghilangan sisa basa yang dapat mengganggu proses selanjutnya (Oyatogun, Esan , Akpan, Adeosun, & Popoola, 2020).

Setelah dilakukan proses deproteinasi, sampel dilakukan proses deasetilasi untuk mengubah kitin menjadi kitosan melalui penghilangan gugus asetil (-COCH3) pada struktur kitin dan diubah menjadi amina (Kozma, Acharya, & Bissessur, 2022). Proses deasetilasi kitin dalam media alkali dapat berlangsung baik dalam kondisi heterogen maupun homogen. Pada metode heterogen, kitin biasanya diolah menggunakan larutan NaOH pekat pada suhu tinggi selama beberapa jam, menghasilkan kitosan sebagai residu tidak larut dengan derajat deasetilasi (DD) sekitar 80–90%. Sebaliknya, pada metode homogen, kitin didispersikan dalam larutan NaOH pekat pada suhu kamar selama beberapa jam, diikuti dengan pelarutan pada suhu sekitar 0 °C, menghasilkan kitosan dengan DD yang dapat mencapai 90% (Novikov, Derkach, Konovalova, Dolgopyatova, & Kuchina, 2023). Proses deasetilasi dilakukan dengan pencampuran sampel dengan larutan NaOH 30% dan gliserol 70% dengan perbandingan massa/volume (1/20 w/v) ke dalam gelas beaker, masukkan gelas beaker ke dalam microwave dan panaskan pada daya sebesar 800 W selama 2 menit, kemudian filtrasi campuran menggunakan pompa distilasi vakum, cuci residu dengan aquadest hingga netral, keringkan residu dalam oven pada suhu 80°C selama 12 jam, lalu timbang dan catat hasil residu yang telah dioven. Penambahan larutan NaOH 30% bertujuan untuk memberikan kondisi basa kuat yang dapat memutus ikatan asetil, sedangkan gliserol 70% berfungsi sebagai agen pelindung yang mencegah degradasi molekul selama proses berlangsung. Pemanasan dengan microwave mempercepat reaksi kimia dengan memanfaatkan gelombang elektromagnetik untuk memanaskan campuran secara merata, sementara proses pencucian memastikan bahwa produk akhir bebas dari residu alkali (Ke, et al., 2024).



Gambar 2. Reaksi Deasetilasi Kitin Menjadi Kitosan

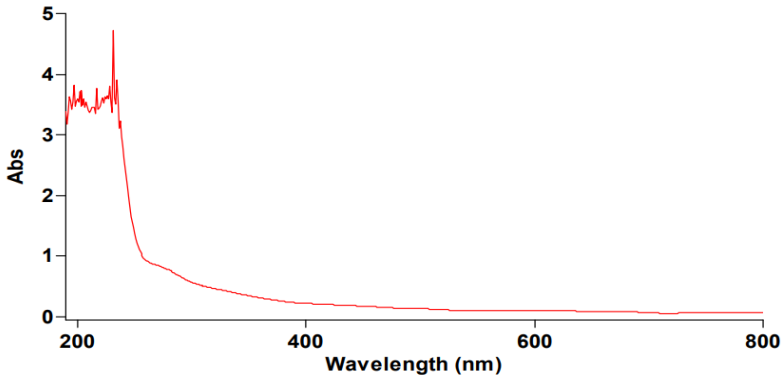
Yield Hasil Sintesis Kitin Menjadi Kitosan

Proses mengubah kitin menjadi kitosan dilakukan melalui reaksi yang disebut deasetilasi, yaitu penghilangan gugus asetil dari struktur kitin. Dalam percobaan ini, tulang sotong digunakan sebagai bahan baku utama untuk memperoleh kitosan. Kitin dari tulang sotong diolah menggunakan larutan basa kuat natrium hidroksida (NaOH), pada suhu tinggi untuk menghilangkan gugus asetil tersebut.

$$\text{Yield (\%)} = \frac{\text{Berat Kitosan}}{\text{Berat Kitin Awal}} \text{x } 100\%$$

Berdasarkan hasil sintesis, dari 100 gram kitin yang digunakan, diperoleh kitosan sebanyak 3,7 gram, sehingga menghasilkan persentase yield sebesar 3,7%. Hasil ini menunjukkan bahwa jumlah kitosan yang diperoleh relatif kecil dibandingkan dengan massa awal kitin. Ada beberapa faktor yang dapat memengaruhi rendahnya yield tersebut. Salah satu kemungkinan adalah proses deasetilasi yang belum berjalan sepenuhnya optimal. Reaksi deasetilasi membutuhkan kondisi tertentu agar berlangsung dengan baik, seperti konsentrasi larutan basa yang sesuai, suhu yang cukup tinggi, dan waktu reaksi yang tepat (Souza & Giudici, 2021). Jika salah satu dari faktor ini tidak terpenuhi, maka hasil yang diperoleh bisa berkurang. Selain itu, kehilangan komponen selama proses pencucian, pemurnian, atau pengeringan juga bisa menjadi penyebab rendahnya hasil. Selain itu, rendahnya yield juga bisa disebabkan oleh kandungan kitin dalam tulang sotong yang tidak terlalu tinggi. Tulang sotong juga mengandung senyawa lain seperti kalsium karbonat dan protein yang harus dihilangkan selama proses awal sebelum menghasilkan kitin murni. Kandungan kitin yang lebih sedikit tentu akan berdampak pada jumlah kitosan yang dapat dihasilkan (Ningrum, Sinaga, & Harahap, 2022). Meskipun jumlah kitosan yang dihasilkan kecil, kualitas kitosan yang diperoleh tetap penting untuk diperhatikan. Kitosan yang baik memiliki tingkat deasetilasi tinggi yang memengaruhi sifat kelarutan dan aplikasinya (Akpan, Gbenebor, Adeosun, & Cletus, 2020). Untuk ke depannya, perlu dilakukan optimasi proses pembuatan kitosan. Beberapa langkah yang bisa dilakukan meliputi peningkatan konsentrasi NaOH, pengaturan suhu yang lebih tinggi, dan perpanjangan waktu reaksi. Dengan optimasi ini, diharapkan yield kitosan dapat meningkat dan prosesnya menjadi lebih efisien. Meskipun hasil awal menunjukkan yield yang rendah, kitosan yang dihasilkan tetap memiliki potensi untuk digunakan dalam berbagai aplikasi, seperti di bidang kesehatan, farmasi, dan pengolahan limbah.

Analisis Kandungan Protein Kitosan Dengan Spektrofotomatri UV-VIS



Gambar 3. Hasil Pengujian Spektrofotometer Tulang Sotong

Spektrum UV-Vis yang diperoleh untuk kitosan dari sampel tulang sotong menunjukkan pola serapan khas material organik dengan gugus fungsi tertentu. Berdasarkan grafik, serapan yang tinggi terjadi pada panjang gelombang di bawah 300 nm, dengan puncak tajam di wilayah sekitar 200–210 nm. Hal ini mengindikasikan adanya transisi elektron dari ikatan ganda yang berasal dari gugus karbonil sisa atau gugus aromatik yang terdapat dalam sampel kitosan (Yan, et al., 2023). Pada panjang gelombang 250–300 nm, terdapat sedikit penurunan absorbansi yang menunjukkan kemungkinan keberadaan transisi dari gugus karbonil atau gugus lain dengan pasangan elektron bebas. Penurunan signifikan pada absorbansi setelah 300 nm menunjukkan bahwa kitosan tidak memiliki gugus kromofor yang dapat menyerap di daerah panjang gelombang yang lebih tinggi (Kaczmarek, Rybczyński, Maćczak, Smolarkiewicz-Wyczachowski, & Ziegler-Borowska). Hal ini konsisten dengan struktur kitosan yang merupakan polisakarida dengan ikatan glikosidik dan gugus amin primer yang tidak aktif secara optik dalam spektrum UV-Vis di wilayah tersebut (Piekarska, Sikora, Owczarek, Jóźwik-Pruska, & Wiśniewska-Wrona, 2023). Keberadaan protein pada sampel kitosan dapat dideteksi melalui pola serapan UV-Vis ini. Jika masih terdapat protein yang terkontaminasi, spektrum biasanya akan menunjukkan puncak serapan tambahan di sekitar panjang gelombang 280 nm yang merupakan karakteristik dari asam amino aromatik seperti tirosin dan triptofan dalam protein. Pada grafik ini, tidak terlihat adanya puncak signifikan di daerah tersebut yang menunjukkan bahwa proses pemurnian telah cukup efektif dalam menghilangkan sisa protein dari sampel kitosan. Hal ini sesuai dengan langkah-langkah dalam sintesis yang melibatkan proses deproteinasi dengan basa untuk memisahkan protein dari struktur kitin (ŠULC, 2024).

Analisis Gugus Fungsi Kitosan

Analisis spektrum FT-IR untuk kitin dan kitosan dilakukan untuk mengidentifikasi gugus fungsi utama dan karakteristik molekul yang mencakup rentang frekuensi 4000 cm^{-1} hingga 400 cm^{-1}. Teknik ini bertujuan untuk mengevaluasi perubahan struktur kimia yang terjadi selama proses deasetilasi kitin menjadi kitosan, terutama dalam mengamati transisi gugus asetamida yang bertransformasi menjadi gugus amina (Novikov, Derkach, Konovalova, Dolgopyatova, & Kuchina, 2023).

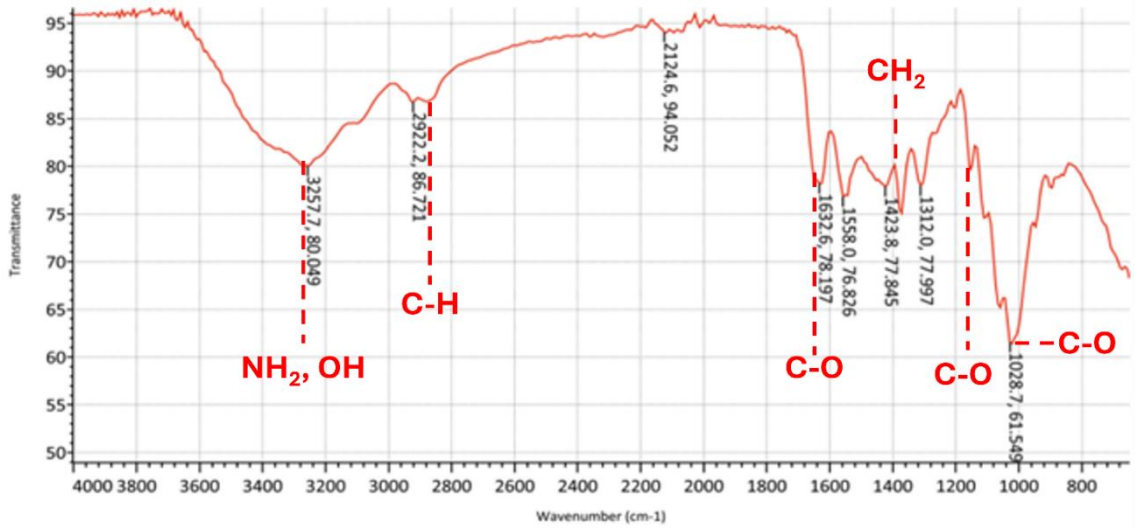
> Dua tahun kemudian, pada 1 Oktober 2005, Bali Kembali menjadi sasaran serangan teroris ketika 3 bom diledakan di tempat wisata Bali : Kafe Nyoman, Kafe Menega, dan Restoran R.AJA, menewaskan 23 orang dan 196 terluka dalam kejadian ini. Motif utama melakukan pengeboman ini sama dengan motif di peristiwa bom bali tahun 2002 diatas[1].

.

Tabel 4.3 *Characteristic bands of chitosan by* FTIR

(Sumber: Dara, Raghavankutty, Digita, & Sivam,(2020))

Absorption Bands of Chitosam	***Attributed to***
3,448 cm^{-1}	Axial stretching of O-H and N-H bonds
2,877 cm^{-1}	Axial stretching C-H bonds
1,663 cm^{-1}	Axial stretching C=O bonds
1,561 cm^{-1}	Angular of C-N axial stretching and N-H bonds of the amino group
1,417-1,377 cm^{-1}	Coupling of C-N axial stretching and N-H angular deformation
1,153-897 cm^{-1}	Glycosidic bonds, C-O and C-O-C stretchings



Gambar 4.4 Hasil Pengujian FTIR Tulang Sotong

Spektrum FTIR kitosan dari sampel tulang sotong menunjukkan keberhasilan proses deasetilasi kitin menjadi kitosan yang ditandai dengan adanya perubahan pada puncak-puncak karakteristik gugus fungsi. Puncak lebar di daerah 3200–3500 cm^{-1} mengindikasikan vibrasi peregangan gugus hidroksil (-OH) dan gugus amin (-NH) merupakan ciri khas kitosan yang mencerminkan sifat hidrofiliknya (Qian, et al., 2018). Kehadiran puncak ini juga menunjukkan keberhasilan transformasi kimia dari kitin menjadi kitosan yang kaya akan gugus amin (Iber, Kasan, Torsabo , & Omuwa, 2021). Puncak di sekitar 2922 cm^{-1} menunjukkan vibrasi peregangan C-H dari gugus metil (-CH) dan metilen (-CH2), menandakan bahwa rantai polimer kitosan tetap terjaga selama proses sintesis (Fatoni, Hariani, Hermansyah, & Lesbani, 2018). Penurunan intensitas puncak karbonil (C=O) pada 1650 cm^{-1} dibandingkan dengan kitin murni menunjukkan tingkat deasetilasi yang tinggi, yaitu hilangnya sebagian besar gugus asetil dari struktur awal kitin (Abdel-Mohsen, et al., 2024). Selain itu, kehadiran puncak pada 1560 cm^{-1} menunjukkan vibrasi lentur (bending) gugus amin primer (-NH2) yang merupakan indikator keberadaan gugus aktif

khas pada kitosan, menggantikan gugus asetil yang sebelumnya mendominasi struktur kitin (Chadha, et al., 2022).

Penentuan Derajat Deasetilasi Kitosan

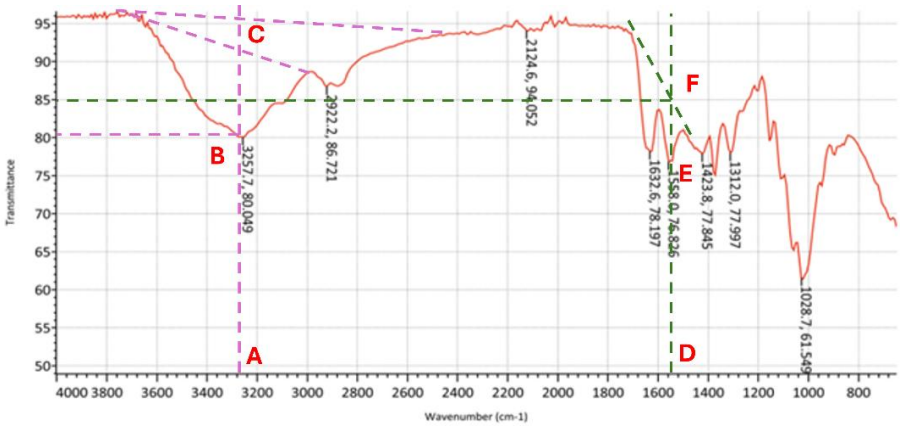
Analisis spektrum FT-IR untuk kitin dan kitosan dilakukan untuk mengidentifikasi gugus fungsi utama dan karakteristik molekul yang mencakup rentang frekuensi 4000 cm^{-1} hingga 400 cm^{-1}. Teknik ini bertujuan untuk mengevaluasi perubahan struktur kimia yang terjadi selama proses deasetilasi kitin menjadi kitosan, terutama dalam mengamati transisi gugus asetamida yang bertransformasi menjadi gugus amina (Novikov, Derkach, Konovalova, Dolgopyatova, & Kuchina, 2023). Derajat deasetilasi (DD) kitosan dihitung berdasarkan metode *baseline* yang menggunakan data spektrum FT-IR. Metode ini memanfaatkan intensitas puncak spesifik yang berhubungan dengan gugus amida (C=O, sekitar 1650 cm^{-1}) dan gugus amina (N-H, sekitar 1590 cm^{-1}). Perhitungan DD menggunakan rumus tertentu yang menghubungkan intensitas puncak tersebut dengan tingkat deasetilasi, sehingga memberikan gambaran kuantitatif mengenai efisiensi proses konversi dan kualitas kitosan yang dihasilkan (Syifa, Stenley, Harmami, & Ulfin, 2019). Derajat deasetilasi kitosan ditentukan dengan metode base line berdasarkan spektrum FT-IR, dengan rumus sebagai berikut:

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

$$A_{1655} = \log\left(\frac{DF}{DE}\right)$$

$$A_{3450} = \log\left(\frac{AC}{AB}\right)$$

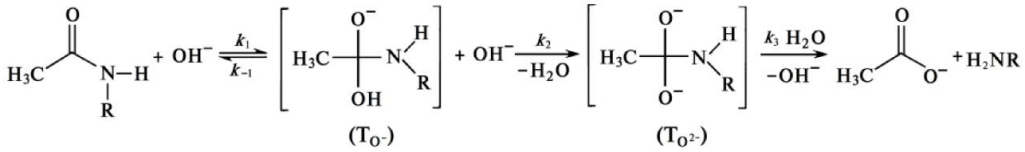
Dimana, A1655 menunjukkan serapan pada pita amida, A3450 menunjukkan serapan pada pita hidroksil, dan faktor 1,33 menunjukkan nilai rasio A1655 / A3450 untuk sepenuhnya derajat deasetilasi kitosan.



Gambar 4.5 Perhitungan Derajat Deasetilasi Dari Spektrum FTIR

Gambar tersebut menunjukkan hasil pengukuran derajat deasetilasi sampel kitosan tulang sotong berdasarkan perhitungan serapan dari spektrum FTIR. Pada gambar tersebut diperoleh nilai AB 30,5 cm, AC 42 cm, DE 28, dan DF 35 cm. Dari hasil perhitungan, diperoleh nilai DD sebesar 60,146% yang menunjukkan bahwa material hasil deasetilasi telah berhasil dikonversi dari kitin menjadi kitosan, dengan nilai DD di atas 50% yang menjadi standar untuk mengklasifikasikan material sebagai kitosan. Kitosan dengan DD sebesar ini memiliki sifat larut dalam larutan asam lemah, seperti asam asetat, karena penghilangan sebagian besar gugus asetil dari struktur kitin meningkatkan kelarutannya (Alemu, Getachew, & Mondal, 2023). Secara khusus, ketika derajat deasetilasi kitin mencapai sekitar 50%, material ini menjadi larut dalam larutan air asam dan mengalami transformasi menjadi kitosan, yang memiliki struktur kationik. Kitosan adalah heteropolisakarida linier yang tersusun atas unit 2-amino-β-D-glukosa (GlcN) yang terikat melalui ikatan poli (1,4). Dalam bentuknya, kitosan dapat ditemukan baik sebagai material semikristalin padat maupun dalam larutan, bergantung pada derajat deasetilasi dan kondisi lainnya (Casadidio, et al., 2019). Sifat larut kitosan dipengaruhi oleh beberapa faktor penting, seperti derajat deasetilasi, berat molekul, distribusi gugus asetil yang tersisa, konsentrasi ionik, pH lingkungan, serta metode isolasi dan pengeringan yang digunakan selama proses produksinya. Kitosan sendiri merupakan istilah kolektif yang mencakup berbagai turunan kitin dengan tingkat deasetilasi yang bervariasi, di mana material ini biasanya diperoleh melalui tiga Pendekatan pertama adalah proses deasetilasi kitin secara termokimia dalam kondisi basa (seperti NaOH) pada keadaan padat, yang memungkinkan penghilangan sebagian gugus asetil. Metode kedua melibatkan hidrolisis enzimatik menggunakan enzim kitin deasetilase, di mana reaksi ini mengubah kitin menjadi kitosan dengan pelepasan gugus asetat. Selain itu, kitosan juga secara alami ditemukan sebagai komponen struktural dalam beberapa jenis jamur. Berbagai metode ini memberikan fleksibilitas dalam memproduksi kitosan dengan sifat dan tingkat deasetilasi yang sesuai untuk aplikasi tertentu, menjadikannya bahan multifungsi yang sangat berguna di berbagai bidang (Casadidio, et al., 2019). Penggunaan larutan NaOH pekat pada proses deasetilasi dapat mempengaruhi hasil kitosan yang diperoleh. Dapat diasumsikan bahwa perlambatan reaksi deasetilasi disebabkan oleh pembentukan sejumlah air selama reaksi yang terbentuk pada molekul kitin, sehingga menyebabkan hidrasi kitin yang dapat mengurangi laju deasetilasi lebih lanjut. Reaksi deasetilasi-reaksi hidrolisis alkali ikatan asetamida (reaksi deasetilasi) adalah substitusi nukleofilik bimolekuler orde kedua SN_2, di mana nukleofil ion hidroksil kuat menyerang ikatan asetamida. Sebagai hasil dari keseluruhan reaksi deasetilasi, tidak ada air yang diproduksi, serta tidak ada yang dikonsumsi. Dalam larutan alkali, ketika karbon amida diserang oleh ion hidroksida (secara konvensional dapat disebut ion hidroksida pertama), zat antara tetrahedral anionik (T_{O^-}) mulai terbentuk. Pada konsentrasi alkali yang tinggi, proton H^+ diambil oleh ion hidroksida kedua (OH^-) untuk membentuk molekul air dan zat antara kedua

(T_{O2-}) terbentuk yang kemudian terurai untuk membentuk ion asetat dan ion amida. Ion amida NHR^- yang diperoleh dengan mengambil proton H^+ dari molekul air (Novikov, Konovalova, & Dolgopyatova, 2022).



Gambar 6. Mekanisme pembelahan ikatan asetamida dalam larutan alkali pekat (Sumber: Novikov, Konovalova, & Dolgopyatova, (2022))

KESIMPULAN DAN SARAN

Proses deasetilasi kitin menjadi kitosan dilakukan menggunakan larutan NaOH pekat yang melibatkan reaksi substitusi nukleofilik bimolekuler (SN2). Pada reaksi ini, ion hidroksil menyerang ikatan asetamida, menghasilkan ion amida dan asetat sebagai produk reaksi. Pembentukan produk ini menandakan keberhasilan reaksi dan menunjukkan efisiensi proses deasetilasi yang tinggi. Spektrum UV-Vis kitosan dari sampel tulang sotong menunjukkan pola serapan material organik dengan gugus fungsi tertentu. Serapan tinggi yang teramati pada panjang gelombang di bawah 300 nm, terutama dengan puncak tajam di sekitar 200–210 nm, mengindikasikan keberadaan transisi elektron dari gugus karbonil sisa atau gugus aromatik. Penurunan absorbansi di wilayah panjang gelombang 250–300 nm mengisyaratkan adanya transisi dari gugus karbonil dengan pasangan elektron bebas. Penurunan signifikan absorbansi setelah 300 nm menunjukkan bahwa kitosan tidak memiliki gugus kromofor aktif di daerah panjang gelombang tersebut. Analisis spektrum FT-IR menunjukkan keberhasilan proses deasetilasi dari kitin menjadi kitosan. Puncak lebar di wilayah 3200–3500 cm^{-1} menunjukkan vibrasi peregangan gugus hidroksil (-OH) dan amin (-NH) yang menegaskan sifat hidrofilik kitosan. Puncak pada 2922 cm^{-1} menunjukkan vibrasi peregangan C-H dari gugus metil (-CH) dan metilen ($-CH_2$), mengindikasikan rantai polimer kitosan tetap terjaga selama sintesis. Penurunan intensitas puncak karbonil (C=O) pada 1650 cm^{-1} dibandingkan kitin murni menunjukkan tingkat deasetilasi yang tinggi, sementara kehadiran puncak pada 1560 cm^{-1} menunjukkan vibrasi lentur dari gugus amin primer ($-NH_2$), menandakan keberadaan gugus amin aktif khas pada kitosan. Derajat deasetilasi (DD) kitosan ditentukan melalui analisis spektrum FT-IR menggunakan metode baseline. Berdasarkan perhitungan, DD kitosan dari tulang sotong mencapai 60,146%, yang menunjukkan keberhasilan transformasi dari kitin menjadi kitosan. Nilai DD ini juga mengindikasikan bahwa material tersebut telah memenuhi standar klasifikasi sebagai kitosan, dengan kemampuan larut dalam larutan asam lemah seperti asam asetat yang merupakan karakteristik utama kitosan.

DAFTAR PUSTAKA

Knidri, H., Dahmani, J., Addaou, A., Laajeb, A., & Lahsini, A. (2019). Rapid and efficient extraction of chitin and chitosan for scale-up production: Effect of process parameters on deacetylation degree and molecular weight. *International Journal of Biological Macromolecules*. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.079

Abdel-Mohsen, A., Abdel-Rahman, R., Kalina, L., Vishakha, V., Kaprálková, L., Němeček, P., . . . Kelnar, I. (2024). Effect of Chitin Nanocrystal Deacetylation on a Nature-Mimicking Interface in Carbon Fiber Composites. *J. Compos. Sci.* doi:https://doi.org/10.3390/jcs8050163

Akpan, E., Gbenebor, O., Adeosun, S., & Cletus, O. (2020). Solubility, degree of acetylation, and distribution of acetyl groups in chitosan. *Handbook of Chitin and Chitosan*. doi:http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-817970-3.00005-5

Alemu, D., Getachew, E., & Mondal, A. (2023). Study on the Physicochemical Properties of Chitosan and their Applications in the Biomedical Sector. *International Journal of Polymer Science*. doi:https://doi.org/10.1155/2023/5025341

Badar, R., Zahid, A., & Yar, M. (2021). Chitin-based nanomaterials. *Biopolymeric Nanomaterials*. doi:https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824364-0.00013-7

Casadidio, C., Peregrina, D., Gigliobianco, M., Siyuan Deng, Censi, R., & Martino , P. (2019). Chitin and Chitosans: Characteristics, Eco-Friendly Processes, and Applications in Cosmetic Science. *Mar Drugs*. doi:https://doi.org/10.3390/md17060369

Chadha, U., Bhardwaj, P., Selvaraj, S., Kumari, K., Isaac, T., Panjwani, M., & Kulkarni, K. (2022). Retracted: Advances in chitosan biopolymer composite materials: from bioengineering, wastewater treatment to agricultural applications. *Materials Research Express*. doi:DOI 10.1088/2053-1591/ac5a9d

Dong, Q., Qiu, W., Feng, Y., Jin, Y., Deng, S., Tao, N., & Jin, Y. (2023). Proteases and microwave treatment on the quality of chitin and chitosan produced from white shrimp (Penaeus vannamei). *e Food*. doi:https://doi.org/10.1002/efd2.73

Fatoni, A., Hariani, P., Hermansyah, & Lesbani, A. (2018). Synthesis and Characterization of Chitosan Linked by Methylene Bridge and Schiff Base of 4,4-Diaminodiphenyl Ether-Vanillin. *Indones. J. Chem*. doi:DOI: 10.22146/ijc.25866

Hosney, A., Ullah, S., & Barčauskaitė, K. (2022). A Review of the Chemical Extraction of Chitosan from Shrimp Wastes and Prediction of Factors Affecting Chitosan

Yield by Using an Artificial Neural Network. *Journals of Marine Drugs*. doi:https://doi.org/10.3390/md20110675

Iber, B., Kasan, N., Torsabo , D., & Omuwa, J. (2021). A Review of Various Sources of Chitin and Chitosan in Nature. *Journal of Renewable Materials*. doi:https://doi.org/10.32604/jrm.2022.018142

Kaczmarek, H., Rybczyński, P., Maćczak, P., Smolarkiewicz-Wyczachowski, A., & Ziegler-Borowska, M. (t.thn.). Chitosan as a Protective Matrix for the Squaraine Dye. *Journals of Mateials*. doi:https://doi.org/10.3390/ma14051171

Ke, L., Zhou, N., Wu, Q., Zeng, Y., Tian, X., Zhang, J., & Fan, L. (2024). Microwave catalytic pyrolysis of biomass: a review focusing on absorbents and catalysts. *npj materials sustainability*. doi:https://doi.org/10.1038/s44296-024-00027-7

Khubiev, O., Egorov, A., Kirichuk, A., Khrustalev, V., Tskhovrebov, A., & Kritchenkov, A. (2023). Chitosan-Based Antibacterial Films for Biomedical and Food Applications. doi:https://doi.org/10.3390/ijms241310738

Kim, Y., & Park, R.-D. (2024). Progress in bioextraction processes of chitin from crustacean biowastes. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. doi:http://dx.doi.org/10.1007/s13765-015-0080-4

Kozma, M., Acharya, B., & Bissessur, R. (2022). Chitin, Chitosan, and Nanochitin: Extraction, Synthesis, and Applications. *Journals of Polymers*. doi:https://doi.org/10.3390/polym14193989

Ningrum, S., Sinaga, S., & Harahap, U. (2022). Isolation Of Chitosan From Cuttlefish Bones. *International Journals of Science, Technology, and Management*. doi:https://doi.org/10.46729/ijstm.v3i3.523

Novikov, V., Derkach, S., Konovalova, I., Dolgopyatova, N., & Kuchina, Y. (2023). Mechanism of Heterogeneous Alkaline Deacetylation of Chitin: A Review. *Journals of Polymers*. doi:https://doi.org/10.3390/polym15071729

Novikov, V., Konovalova, I., & Dolgopyatova, N. (2022). The Mechanism of Chitin and Chitosan Deacetylation during Long-Term Alkaline Treatment. *Applied Biochemistry and Microbiology*. doi:DOI: 10.1134/S0003683822030097

Oyatogun, G., Esan , T., Akpan, E., Adeosun, S., & Popoola, A. (2020). Chapter 11 - Chitin, chitosan, marine to market. *Handbook of Chitin and Chitosan*. doi:https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817966-6.00011-X

Piekarska, K., Sikora, M., Owczarek, M., Jóźwik-Pruska, J., & Wiśniewska-Wrona, M. (2023). Chitin and Chitosan as Polymers of the Future—Obtaining, Modification, Life Cycle Assessment and Main Directions of Application. *Journals Polymers*. doi:https://doi.org/10.3390/polym15040793

Pratiwi, S., Utami, N., & Damayanti, P. (2022). Extraction Chitosan And Characterization Nanoparticle Chitosan From Pupae Sheels Of Black Soldier Fly (Hermetia illucens). *Medical Sains Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. doi:http://dx.doi.org/10.37874/ms.v7i4.516

Qian, J., Wang, X., Shu, J., Su, C., Gong, J., Xu, Z., . . . Shi, J. (2018). A Novel Complex of Chitosan–Sodium Carbonate and Its Properties. *Journal of Marine Drugs*. doi:https://doi.org/10.3390/md16110416

Rasweefali , M., Sabu, S., Azad, K., Rahman , Sunooj, K., Sasidharan, A., & Anoop, K. (2022). Influence of deproteinization and demineralization process sequences on the physicochemical and structural characteristics of chitin isolated from Deep-sea mud shrimp (Solenocera hextii). *Advances in Biomarker Sciences and Technology*. doi:https://doi.org/10.1016/j.abst.2022.03.001

Sari, I., Mumpuni, E., & Purwanggana, A. (2024). The Demineralization Optimization for Chitosan Synthesis from Crab Shell Waste (Portunus pelagicus). *Journal Of Pharmacy and Science*. doi:http://dx.doi.org/10.36341/jops.v7i2.4653

Shaqsi, N., Hoqani, H., Hossain, M., & Sibani, M. (2020). Optimization of the demineralization process for the extraction of chitin from Omani Portunidae segnis. *Biochemistry and Biophysics Reports*. doi:https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2020.100779

Souza, J., & Giudici, R. (2021). Effect of diffusional limitations on the kinetics of deacetylation of chitin/chitosan. *Carbohydrate Polymers*. doi:https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117278

Stie, M., Kalouta, K., Vetri , V., & Foderà , V. (2022). Protein materials as sustainable non- and minimally invasive strategies for biomedical applications. *Journal of Controlled Release*. doi:https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.02.016

ŠULC, M. (2024). Chitin quantitation (as glucosamine) in food raw materials by spectrophotometry. *Journals of Material*. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.mex.2024.102669

Syifa, M., Stenley, Harmami, & Ulfin, I. (2019). Synthesis of water-soluble chitosan from squid pens waste as raw material for capsule shell: temperature deacetylation and reaction time. *IOP Conference Series Materials Science and Engineering 509:012070*. doi:http://dx.doi.org/10.1088/1757-899X/509/1/012070

Yan, X., Wardana, A., Meng, F., Leonard, S., Nkede, F., & Tanaka, F. (2023). Characterization and bio-functional performance of chitosan/poly (vinyl alcohol)/trans-cinnamaldehyde ternary biopolymeric films. *International Journal of Biological Macromolecules*. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125680

Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications. *Marine Drugs*. doi:https://doi.org/10.3390%2Fmd13031133