

Sintesis Dan Karakterisasi Hidrogel Hasil Polimerisasi Cangkok Asam Akrilat-Akrilamida Pada Kitin Yang Diisolasi Secara Enzimatis Dari Limbah Udang

Heksa Desi Amaliya, Achmad Sjaifullah*, Agung Budi Santoso
Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Jember

*E-mail: Sjaiful.fmipa@unej.ac.id

ABSTRAK

Hidrogel merupakan polimer jaringan hidrofilik yang mampu menyerap banyak air. Hidrogel berhasil dibuat menggunakan kitin yang diisolasi secara enzimatis dari limbah udang memanfaatkan enzim protease dari sistem pencernaan udang dalam limbah itu sendiri. Pemanfaatan enzim menurunkan penggunaan senyawa kimia yang tidak ramah lingkungan. Kitin yang diisolasi secara enzimatis dipolimerisasi cangkok dengan campuran asam akrilat (AA) dan akrilamida (AAm) untuk membentuk hidrogel kitin-poli(AA-ko-AAm) menggunakan metode polimerisasi larutan sederhana dengan inisiator kalium persulfat sebagai pemicu reaksi adisi radikal. Hidrogel dikarakterisasi %grafting, swelling, dan spektra IR-nya. %grafting cenderung meningkat dengan peningkatan berat monomer AA dan AAm. Hidrogel dengan perbandingan berat Kitin:AA:AAm = 1:10:10 memiliki nilai %grafting tertinggi yaitu 1725,629% dan swelling terbesar yaitu 202,016 g/g dari bobot kering hidrogel.

Kata Kunci: hidrogel, kitin, enzim protease, hidrogel kitin-poli(AA-ko-AAm)

PENDAHULUAN

Indonesia adalah Negara maritim yang memiliki wilayah kelautan sangat luas menyebabkan sumber daya kelautan dan perikanan berlimpah (Dahuri, 2001). Salah satu potensi hasil laut Indonesia adalah udang. Tahun 2010-2013 rata-rata permintaan udang baik domestik maupun ekspor meningkat (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2014). Peningkatan produksi dan pemasaran udang berdampak pada peningkatan limbah udang. Kandungan kitin pada limbah udang berpotensi untuk diisolasi. Kitin dapat diisolasi dengan memisahkan kandungan protein, mineral dan pigmen dari limbah udang (No et al., 1989). Kitin telah berhasil diisolasi sebesar 14-35 % dari kulit crustacea (Kurniasih dan dwiasih, 2007).

Kemajuan di bidang bioteknologi, memungkinkan dilakukannya isolasi kitin dengan memanfaatkan proses-proses enzimatis untuk mengurangi penggunaan senyawa kimia yang tidak ramah lingkungan. Enzim protease dari *Mucor pusillus* efektif mendeproteinasi cangkang udang dalam penelitian Yunianta (2006). Pemisahan protein limbah udang menggunakan ekstrak kasar protease isi perut ikan lemuru berhasil dilakukan Juniarso (2008). Merujuk pada keefektifan aktifitas enzim protease, maka penelitian ini mencoba melakukan deproteinasi kitin menggunakan enzim protease yang terkandung pada sistem pencernaan (isi kepala udang) limbah udang itu sendiri.

Penelitian dan pengembangan kitin sangat pesat terfokus pada aplikasi derivat kitin yaitu kitosan yang banyak diaplikasikan dalam sintesis hidrogel (Marganof, 2002; Heller et al., 1990; Kumar, 2000). Hidrogel merupakan jaringan hidrofilik yang dapat menyerap air sedikitnya 20% dari berat keringnya (Park & Park, 1996). Hidrogel telah banyak dimanfaatkan

dalam aplikasi biomedis dan pertanian (Erizalet al., 2011). Padahal, hidrogel berbasis kitin dengan pencangkokan monomer asam akrilat telah berhasil dibuat oleh Tanodekaew et al. (2004), sehingga penelitian ini mengacu pada pembuatan hidrogel berbasis kitin. Pembuatan hidrogel menggunakan metode polimerisasi cangkok pada kitin yang diisolasi secara enzimatis. Kitin berupa padatan amorf dapat larut menggunakan campuran NaOH dan Urea (Hu et al., 2007). Campuran asam akrilat dan akrilamida digunakan sebagai campuran monomer cangkok. Sintesis Hidrogel dengan pencangkokan asam akrilat memiliki keterbatasan dalam penyerapan air dengan sifat fisik yang relatif rendah, sehingga perlu penambahan monomer akrilamida yang juga bersifat mampu menyerap air. Penambahan monomer lain yang sesuai pada suatu jenis monomer akan menaikkan sifat fisik hidrogel yang dihasilkan (Erizal, 2010).

Dari ulasan di atas, fokus penelitian ini, mengetahui perbandingan kitin enzimatis dan kimiawi serta karakter hidrogel kitin enzimatis yang dicangkok AA dan AAm dengan perbandingan variasi berat. Inisiator yang digunakan $K_2S_2O_8$. Karakterisasi hidrogel yang didapatkan menggunakan pengukuran persen cangkok (%grafting) dan kapasitas penyerapan air (swelling) serta analisis spektra IR.

METODE PENELITIAN

Bahan

Limbah udang (kulit, kepala, ekor, kaki) dari pabrik pembekuan udang PT Istana Cipta Sembada Banyuwangi, indikator universal, asam akrilat ($\rho = 1,051 \text{ g/cm}^3$), aseton (E-Merck, Mr: 58,07 g/mol, $\rho: 0,79 \text{ g/mL}$), aluminium foil, HCl 37% (pa) (E-Merck $\rho = 1,19 \text{ g/mL}$), larutan H_2SO_4 (E-Merck, Mr: 98,07 g/mol,

ρ :1,84 g/mL), CuSO₄ (E-Merck 249,68 g/mol), Na₂CO₃ (E-Merck Mr = 105,99 g/mol), KCl (E-Merck), TCA (Riedel-de Haen, Mr = 163,39 g/mol), Kasein (E-Merck), BSA (Fluka), L-Tirosin (E-Merck, Mr: 181,19 g/mol), Buffer pH 1, Comassie brilliant blue (CBB), etanol 99% (E-Merck), asam fosfat 85%, H₃BO₃ (Riedel-de Haen, Mr = 61,83 g/mol), indikator *methyl orange* (E-Merck Mr = 327,34 g/mol), indikator *methyl red* (E-Merck Mr = 629,31 g/mol), akrilamida (C₃H₅NO) padat, K₂S₂O₈ (E-Merck Mr = 270, 32 g/mol), akuades, kertas saring, NaOH (Teknis) padat, NaOCl 12% (teknis), urea padat dan indikator *bromecresol green* (Fluka).

Prosedur Kerja

Isolasi kitin dilakukan secara enzimatis dan kimiawi. Isolasi secara enzimatis dengan merendam limbah cangkang udang dalam larutan HCl 1 M selama 10 hari dan dilakukan pengontrolan pH 1-2. Isolasi enzimatis memanfaatkan enzim protease pada sistem pencernaan limbah udang untuk menghidrolisis protein. Aktivitas protease pada limbah udang diuji menggunakan metode Horikoshi dan pengujian kadar protein ekstrak kasar dengan metode Bradford untuk mendukung adanya aktivitas enzim pada limbah udang. Isolasi kitin secara kimiawi dilakukan berdasarkan metode Noet al. (1989) dimodifikasi dengan tiga tahapan yaitu deproteinasi, demineralisasi, dan depigmentasi. Karakterisasi kitin meliputi kadar nitrogen, air, abu, dan pengukuran spektra IR. Kitin hasil isolasi enzimatis digunakan untuk sintesis hidrogel melalui polimerisasi cangkok radikal bebas. Kitin dilarutkan dalam NaOH 8%/urea 4% sesuai dengan metode Hu et al., (1996). Larutan kitin ditambahkan inisiator kalium persulfat (1% dari total monomer) dan campuran asam akrilat dan akrilamida dengan variasi kitin : AA: AAm (1:6:6, 1:6:8, 1:6:10, 1:8:6, 1:8:8, 1:8:10, 1:10:6, 1:10:8, dan 1:10:10 (b/b). Karakterisasi Kitin meliputi %grafting, swelling, dan spektra IR.

	Bilangan Gelombang Kitin			Jenis Vibrasi
	(Kurniasih & dwiasi 2007)	kimiawi	Enzimatis	
1:6:10,	3448,5	3445,92	3450,98	<i>stretching</i>
1:8:6,				OH alkohol
1:8:8,				<i>stretching</i>
1:8:10,				N-H amida
1:10:6,	3271,0	3115,00	3101,96	sekunder
1:10:8,				<i>stretching</i>
dan				C-H
1:10:10	2885,3	2922,57	2922	<i>bending</i>
(b/b).	1380,9	1376,75	1377,48	-CH ₃
Karakterisasi				<i>stretching</i>
Kitin	1658,7	1650,29	1648,50	C=O amida
meliputi				<i>bending</i>
%grafting,	1558,4	1556,75	1541,21	N-H amida
swelling,	1311,5	1313,62	1314,34	<i>bending</i>
g, dan	1157,2;	1155,06;	1155;	C-N
spektra	1072,3	1071,62	1070,74	<i>bending</i>
IR.	dan	dan	dan	C-O dari
	1026,1	1029,07	1030,60	C-O-C dan
				C-O-H

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Ekstrak Kasar Protease Limbah Udang

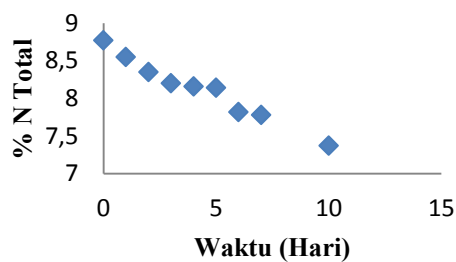
Kadar protein pada ekstrak kasar protease dari limbah udang (isi kepala) didapatkan sebesar 0,718 mg/ml. Hasil aktivitas enzim total dan spesifik ekstrak kasar protease pada penelitian sebesar 8,951 unit/ml dan 12,466 unit/mg yang terukur pada pH1 dan suhu ruang (25°C). Nilai aktivitas total pada penelitian ini lebih kecil dibandingkan Rizal (2008) sebesar 12,780 unit/ml yang terukur pada pH 1 suhu 40°C disebabkan pengukuran aktivitas tidak pada suhu optimum protease asam seperti pepsin. Pepsin optimum pada pH 2 dan suhu 40°C (Whitaker, 1994).

Kitin Kimiawi dan Enzimatis dari Limbah Udang

Isolasi kitin dapat dilakukan dengan cara kimiawi dan enzimatis. Isolasi enzimatis menggunakan peredaman limbah udang segar dalam larutan HCl 1M. Hidrolisis protein oleh enzim protease limbah udang diuji dengan pengukuran %N total menggunakan metode Kjeldahl setiap 24 jam. Hasil uji kadar N total metode Kjeldahl selama 10 hari disajikan pada gambar 1.

Berdasarkan pada gambar 1, terjadi penurunan %N total tiap harinya pada sampel yang diisolasi secara enzimatis. Penurunan % N total hari pertama hingga hari ketiga terlihat tajam dimungkinkan pada hari pertama enzim masih bekerja dengan baik sedangkan pada hari selanjutnya terjadi penurunan aktivitas. Kadar N total hari ke-10 mendekati kitin kimiawi sehingga dilakukan pengambilan sampel. Kadar N kitin enzimatis mirip dengan kitin kimiawi yaitu 6,51% meskipun nilainya sedikit lebih besar yaitu 6,77%. Kedua nilai tersebut sesuai dengan literatur No, *et al* (1989) dimana kadar N kitin komersial kurang dari 6,9%, Dutta *et al.*, 2004 dimana kandungan nitrogen kitin 5-8%, Brzeski (1982) sebesar 6,14-6,96%, Rutherford & Austin (1978) sebesar 6,7-8,3%, Synowieckit & Al-Hateeb (2000) sebesar 6,58%.

Keberhasilan demineralisasi diuji menggunakan analisis kadar abu. Hasil rata-rata kadar abu serbuk limbah udang, kitin kimiawi dan enzimatis berturut-turut sebesar 24,081 %, 0,971% dan 1,169%. Nilai kadar abu kitin sesuai dengan literatur Brzeski (1982) dimana tidak lebih dari 3%, Rutherford dan Austin (1978) dimana kadar abu pada kisaran 0,6-4,0 %. Depigmentasi kitin menggunakan aseton dan NaOCl. Aseton dapat melarutkan pigmen udang (*astaxanthin*) dan NaOCl mampu mengoksidasi pigmen *astaxanthin* sehingga kitin yang dihasilkan tampak lebih putih. Hasil depigmentasi disajikan pada gambar 2.



Gambar 1. Grafik Penurunan Kadar N total Limbah Udang

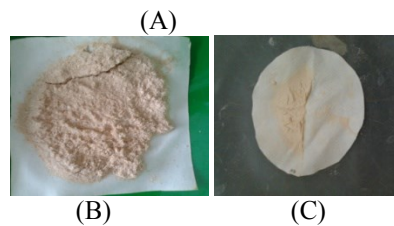
Tabel 1. Hasil IR Kitin

Terjadi penurunan kadar nitrogen yang signifikan pada hari ke-1 hingga hari ke-6, hal ini menunjukkan kerja enzim protease dalam menghidrolisis protein optimal pada hari tersebut. Dan terjadi penurunan kadar nitrogen yang tidak signifikan dari hari ke-6 hingga hari ke-10 karena terjadi penurunan aktifitas dari enzim. Kadar nitrogen sampel pada hari ke-10 merupakan kadar nitrogen total dari kitin yaitu sebesar 5,77%. Pada penelitian yang dilakukan Mirzani & Aminlari (2007) kadar nitrogen pada kitin juga sekitar 5,87%. Tabel 1 menunjukkan kadar nitrogen total dari limbah udang, kitin enzimatik, dan kitin kimiawi.

Sampel H-0 dan sampel setelah isolasi diuji kadar abu-nya untuk mengetahui hasil demineralisasi.

Rata-rata kadar abu H-0 dan kitin hasil isolasi secara kimiawi berturut-turut sebesar 18,94% dan 0,87%. Kadar abu menurun setelah demineralisasi, hal ini menunjukkan bahwa demineralisasi yang dilakukan telah berhasil. Menurut Sini *et al.*, (2007), kadar abu kitin sebesar $0,854 \pm 0,04\%$. Jika dibandingkan, kitin kimiawi yang diperoleh mendekati dengan nilai pada literatur. Kadar abu kitin enzimatik, setelah perendaman dengan HCl berkurang sebanyak hampir 18% dari sampel awal. Rata-rata kandungan mineral kitin hasil isolasi enzimatik yaitu 1,01%. Kadar abu kitin enzimatik lebih tinggi karena proses deminerasinya tanpa penambahan suhu dan ukuran sampel yang didemineralisasi lebih besar, sehingga pemutusan mineral pada cangkang udang kurang efektif.

Gambar 2 menunjukkan spektra kitin. Kedua spektra FTIR diatas memiliki kemiripan dan menunjukkan pita serapan khas dari kitin.



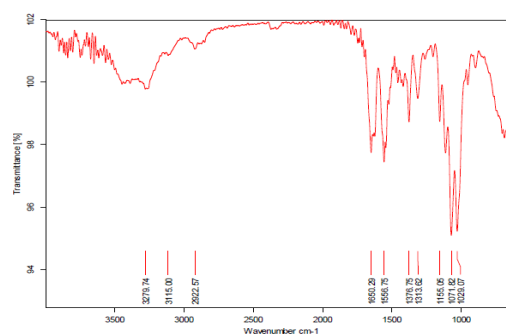
Gambar 2. Penampakan Serbuk Udang (A), Kitin Enzimatis (B), dan Kitin Kimiawi (C)

Sehingga isolasi kitin secara enzimatik dapat dianggap efektif sebagai alternatif isolasi kitin pada limbah udang. Terjadi perbedaan persen transmitansi dari kitin kimiawi dan enzimatik pada bilangan gelombang 1623cm^{-1} dan 1648cm^{-1} , hal ini karena konsentrasi gugus C=O asetamida pada kitin enzimatik lebih tinggi dibandingkan kitin kimiawi. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh isolasi kitin secara enzimatik lebih murni dan bersih dari campuran.

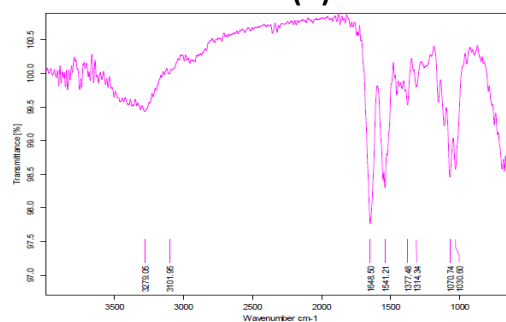
Sintesis Hidrogel

Gambar 3 menunjukkan besarnya %add-on hidrogel Kitin-Aam-MBA. Dan gambar 4 menunjukkan swelling hidrogel.

Gambar 3 menunjukkan penambahan monomer pada rantai kitin mengalami kenaikan seiring bertambahnya jumlah Aam dan MBA. Hidrogel dicuci dengan aseton dan air untuk melarutkan homopolimer yang terbentuk selama proses polimerisasi. Pengurangan massa sebelum dan sesudah pencucian sangat sedikit, ini menunjukkan bahwa homopolimer yang terjadi sangat sedikit dan banyaknya monomer

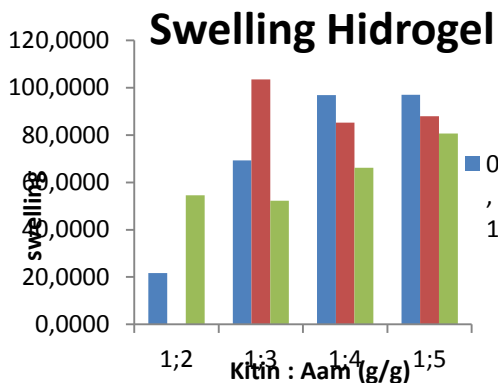


(A)



(B)

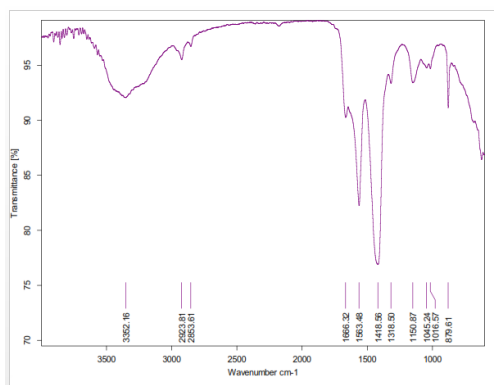
Gambar 3. Spektra IR Kitin Kimiawi(A)dan Kitin Enzimatis (B)



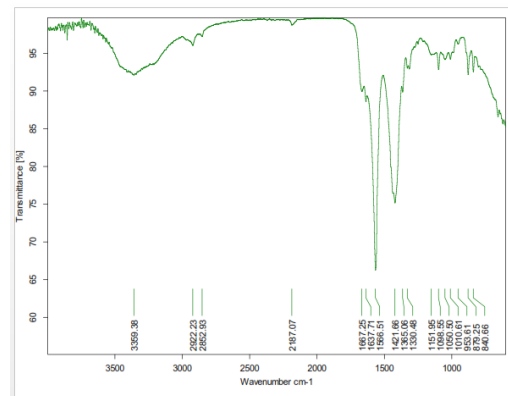
Gambar 4. Swelling

yang terangkok dan terikat silang. Selain homopolimer yang larut, terdapat lapisan tipis sekitar irisan hidrogel yang ikut larut dalam air. Hal ini disebabkan terlalu banyak gugus hidrofil pada polimer yang mengikat air, sehingga lapisan tipis ini lepas dari rantai polimer dan larut dalam air. Pada hidrogel 1:2:0,15 hidrogel yang terbentuk hanya larutan kental, dan larut ketika dicuci sehingga tidak dapat dihitung %add-on.

Gambar 4 menunjukkan bahwa pada hidrogel dengan perbandingan kitin : Aam sebesar 1:4 dan 1:5 dan MBA 0,1; 0,15; 0,2 gram memiliki trend semakin banyak MBA, maka kapasitas absorpsi hidrogel semakin rendah. Hal ini menunjukkan semakin banyak rantai kitin-Aam yang terikat silang, maka daya serap airnya menurun. MBA mengikat silang rantai polimer cangkok sehingga jarak antar rantai semakin dekat menyebabkan air yang terjebak diantara rantai semakin sedikit. Hidrogel dengan perbandingan kitin 1:3:0,15 g memiliki absorpsi tertinggi.



(a)



(b)

Gambar 5. Spektra FTIR Hidrogel (a) 1:5:0,1 & (b) 1:5:0,15

Muncul sinyal serapan O-H dan N-H pada bilangan gelombang 3352 cm^{-1} setelah polimerisasi. Intensitas pada peak OH menurun dari 3448,72 cm^{-1} menjadi 3352 cm^{-1} karena overlapping dengan stretching N-H dari akrilamida. Hal ini menunjukkan OH kitin berkurang setelah polimerisasi. *Stretching* C=O amida dengan frekuensi yang rendah pada bilangan gelombang 1666,32 cm^{-1} menunjukkan amida dari akrilamida. *Bending* amida sekunder muncul pada panjang gelombang 1563,48 cm^{-1} , sinyal ini menunjukkan adanya mba yang mengikat silang rantai kitin-aam. Dengan analisis gugus fungsi pada hidrogel dapat diketahui bahwa terjadi polimerisasi cangkok dan ikat silang pada kitin.

KESIMPULAN

Rendemen massa kitin enzimatis sebesar 9,72%, sedangkan menurut literatur rendemen dari berat basah limbah sebesar 6%. Perbedaan ini disebabkan oleh banyaknya air limbah udang yang terambil saat isolasi. Karakteristik kitin enzimatis yaitu kadar N total dan kadar abu berturut-turut 5,77% dan 1,01% sedangkan kitin kimiawi sebesar 5,81% dan 0,87%. Karakteristik kitin enzimatis mendekati kitin kimiawi. Selain itu Spektrum IR kitin enzimatis dan kimiawi menunjukkan kemiripan. Hidrogel dengan swelling paling tinggi pada perbandingan kitin:Aam dan MBA 1:3 0,5 gram yaitu sebesar 103,5370 dan %Add-on menunjukkan semakin besar jumlah monomer yang tambahkan semakin tinggi %Add-on. Hidrogel dengan penambahan MBA 1,5 gram sangat keras dan mudah pecah.

DAFTAR PUSTAKA

Focher, B., Naggi, A., Tarri, G., Cosami, and Terbojevich, A. 1992. Structural Differences Between Chitin Polimorphs And Their Precipitates Solution Evidence From CP-MAS 13, FT-IR, and

- FT-Rahman Spectroscopy. *Charbohidrat Polimer* 17 (2).
- Hu, X., Du, Y., Tang, Y., Wang, Q., Feng, T., Yang, J., Kennedy, J. F. 2007. Solubility and property of chitin in NaOH/urea aqueous solution. *Elsivier. Carbohydrate Polymers* 70 : 451–458.
- Mirzani, A.M., and Aminlari, B.M. 2007. *A New Process for Deproteinization of Chitin from Shrimp Head Waste*. Congress of Chemical Engineering : Copen hagen.
- Muzzarelli, R. A. A. 1985. Chitin in the Polysaccharides. *Academic press Inc.* Orlando, San Diego Vol 3 (147).
- Shahidi, F., and Synowiecki, J. 1991. Isolation and Characterization of Nutrient and Value-Added Products from Snow Crab (*Chionoectes opilio*) and Shrimp (*Pandalus borealis*) Processing Discards. *J. Agrid. Food Chem* 39 : 1527 – 1532.
- Sini, T.K., Santosh, S., dan Mathew, P.T. 2007. Study on The Production of Chitin and Chitosan from Shrimp Shell by Using *Bacillus Subtilis* Fermentation. *Carbohydrate Research* 342 : 2423-2429.
- Stevens, M. P. *Kimia Polimer*. Terjemahan oleh Iis Sopyan. 2007. Jakarta: Pradnya Paramita.
- Tanodekaew, S., Prasitsilp, M., Swasdison, S., Thavornyutikarn, B., Pothsree, T., Pateepasen, R. 2004. Preparation of Acrylic Grafted Chitin for Wound Dressing Application. *Biomaterials*. 25 (2004) : 1453-1460.
- Toan, N. V., Ng-How, C., Aye, K.Y., and Trans, T. S. 2006. Production of High-Quality Chitin and Chitosan from Precondition Shrimp Shells. *J. Chemical technology and Biotechnologi* (81).