

Preparation of Chitin, Study of Physicochemical Properties and Biopesticide Activities

Yuli Rohyami^a, Reni Banowati Istiningrum

Program Studi DIII Analis Kimia FMIPA UII

Jl. Kaliurang Km 14,5 Yogyakarta, ^aEmail : rohyami@uii.ac.id

ABSTRACT

Chitin was prepared from shrimp shells by chemically method. Preparation was carried out by deproteination shrimp shells powder ≤ 150 mesh with 1 - 2 M NaOH, demineralization followed by reaction with 1.0 M HCl and depigmentation with (1 : 2 : 4, v/v) of chloroform : methanol : water. Physicochemical properties of chitin was determined from characterization of infrared spectra, ash value, loss on drying and total of nitrogen. Biopesticide activities of chitin was done to pest *Bemisia tabaci* at guava leaves with various concentration from 0.5 to 2.0 % chitin on 3 % v/v acetic acid.

This study indicated that concentration of NaOH on deproteination process effected to its physicochemicals properties. Effectivity of 2 M NaOH on deproteination reaction was higher than 1 M NaOH . The degree of chitin deacetylation from 2 M NaOH was 13.61% and had lower molar ratio of total nitrogen. The degree of deacetylation of chitin from 1 M NaOH had lower and had higher molar ratio of total nitrogen. Physicochemicals properties of chitin quite an impact on its ability to reduce pest *Bemisia tabaci*. Biopesticide activity assay showed that treatment for 2 days on average mortality rate of 13.83%. Deacetylation of chitin which has a higher degree have a greater ability biopesticide with a mortality rate of up to 38.24%. This study the effect of deproteination process to biopesticide activities of chitin.

Key Words : chitin, degree of deacetylation, molar ratio, biopesticide, *Bemisia tabaci*

ABSTRAK

Preparasi kitin telah dilakukan dari cangkang udang dengan menggunakan metode kimiawi. Preparasi dilakukan dengan proses deproteinasi serbuk cangkang udang ≤ 150 mesh dengan NaOH 1 – 2 M dilanjutkan dengan reaksi demineralisasi dengan HCl 1,0 M dan depigmentasi dengan kloroform, metanol dan air (1 : 2 : 4, v/v). Sifat fisikokimiawi kitin ditentukan berdasarkan spektra inframerah serta berdasarkan hasil penentuan kadar abu, kadar air, dan total nitrogen. Uji aktivitas biopestisida kitin dilakukan terhadap hama kutu putih (*Bemisia tabaci*) pada daun jambu biji merah dengan variasi konsentrasi 0,5 – 2,0 % kitin dalam asam asetat 3 % v/v.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi larutan NaOH yang digunakan pada reaksi deproteinasi memberikan pengaruh terhadap sifat fisikokimiawi. Efektivitas larutan NaOH 2 M dalam reaksi deproteinasi kitin lebih besar daripada larutan NaOH 1 M. Kitin yang dideproteinasi dengan larutan NaOH 2 M mempunyai derajat deasetilasi 13,61 % dan memiliki rasio molar total nitrogen yang lebih rendah. Derajat deasetilasi kitin yang dideproteinasi dengan larutan NaOH 1 M lebih rendah dan memiliki rasio molar total nitrogen yang lebih tinggi. Sifat fisikokimiawi kitin cukup memberikan pengaruh terhadap kemampuan kitin dalam mengurangi hama *Bemisia tabaci*. Uji aktivitas biopestisida menunjukkan bahwa selama perlakuan 2 hari tingkat mortalitas rata-rata 13,83%. Kitin yang mempunyai derajat deasetilasi yang lebih tinggi memiliki kemampuan biopestisida lebih besar dengan tingkat mortalitas hingga 38,24%. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya pengaruh efektivitas deproteinasi terhadap aktivitas kitin sebagai biopestisida.

Kata-kata kunci : kitin, derajat deasetilasi, rasio molar, biopestisida, *Bemisia tabaci*

Pendahuluan

Kitin merupakan senyawa polisakarida linear yang mengandung N-asetil-D-glukosamin yang terikat β Kitin termasuk golongan polisakarida yang mengandung nitrogen, berwarna putih, keras, dan tidak elastis. Kitin mempunyai derajat deasetilasi 5 – 15 %, sedangkan kitosan berkisar 70 – 95 %. Semakin tinggi derajat deasetilasinya, menyebabkan kelarutannya semakin rendah. Menurut Cheba (2011), kitin mempunyai massa molekul $1,03 \cdot 10^6$ – $2,5 \cdot 10^6$ Da. Kitin bersifat hidrofobik dan tidak larut dalam air tetapi larut dalam beberapa pelarut organik pada pH rendah. Adanya gugus hidroksil dan asam amino memungkinkan kitin mudah disubstitusi dengan gugus lain.

Kitin bersifat *biodegradable*, *biocompatible*, *citocompatible*, dan mempunyai bioaktivitas serta daya adsorpsi yang ditentukan oleh sifat biologi dan fisikokimiawinya (Kumirska, *et al.*, 2011). Sifat biologi dan fisikokimiawi kitin dipengaruhi oleh derajat deasetilasinya.

Kitin dapat diekstrak dari binatang crustacea, insekta, moluska dan fungi melalui ekstraksi secara kimiawi atau biologi. Ekstraksi kitin secara kimiawi melibatkan reaksi deproteinasi dengan larutan alkali, seperti larutan NaOH. Efektifitas reaksi deproteinasi dipengaruhi oleh konsentrasi larutan NaOH yang digunakan tanpa memberikan perbedaan

hasil karakterisasi pada spektra kitin yang dihasilkan (Junaidi, *et al.*, 2009). Efektivitas NaOH dalam reaksi deproteinasi diduga akan kualitas kitin yang dihasilkan. Adanya protein sisa yang berikatan dengan kitin akan menyebabkan perbedaan sifat fisikokimiawinya.

Sifat fisikokimiawi kitin yang telah melewati proses kimiawi akan berpengaruh pada bioaktivitasnya. Salah satu aplikasi kitin dan kitosan adalah sebagai kemampuannya sebagai senyawa yang memiliki aktivitas biopestisida (Arbia, *et al.*, 2013, Yanti, *et al.*, 2009).

Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari kemampuan kitin sebagai senyawa biopestisida pada hama pertanian, seperti kutu putih (*Bemisia tabaci*) pada tanaman buah. Uji bioaktivitas kitin dapat dilakukan dengan mempelajari pengaruh konsentrasi kitin terhadap tingkat mortalitasnya (Khan dan Qamar, 2011; Sujak dan Diana, 2012). Hasil penelitian ini diharapkan dapat mereduksi penggunaan pestisida, terutama pada produk buah dan sayur yang dikonsumsi dalam keadaan segar.

Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mempelajari pengaruh konsentrasi larutan NaOH dalam reaksi deproteinasi terhadap sifat fisikokimiawi kitin

2. Mempelajari pengaruh sifat fisikokimiawi dan konsentrasi kitin terhadap hasil uji aktivitas sebagai biopestisida hama kutu putih (*Bemisia tabaci*)

Metode Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer inframerah Shimadzu FTIR 8201PC, neraca analitik, oven, seperangkat alat soxhlet, pengaduk magnetik, ayakan 150 mesh, dan peralatan gelas laboratorium.

Bahan utama dalam penelitian ini adalah cangkang udang putih yang diperoleh dari *supplier* udang yang ada di Yogyakarta. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah natrium hidroksida (NaOH), metanol (CH₃OH), kloroform (CHCl₃), asam asetat (CH₃COOH) asam klorida (HCl), asam sulfat (H₂SO₄). Semua bahan yang diproduksi oleh Merck. Bahan lain yang digunakan adalah indikator fenil ftalein, indikator metil merah, indikator metil biru, akuades, kertas saring Wathman 42, dan kertas pH universal.

Ekstraksi kitin dilakukan dengan deproteinasi, demineralisasi dan depigmentasi mengacu pada penelitian Arbia, *et al.* (2013). Sebanyak 50 g serbuk cangkang ukuran ≤ 100 mesh direfluks dengan 500 mL larutan NaOH 1 – 2 M pada temperatur 65°C selama 2 jam. Hasil deproteinasi didemineralisasi dengan 250 mL HCl 1 M selama 60 menit pada temperatur

kamar. Kitin yang telah diperoleh didepigmentasi dengan menggunakan 50 mL campuran kloroform, metanol dan air (1 : 2 : 4, v/v).

Penentuan sifat Fisikokimiawi

Derajat deasetilasi kitin ditentukan dengan spektrofotometri inframerah menggunakan metode baseline Baxter dengan membandingkan absorbansi pada 1655 cm⁻¹ dan 3450 cm⁻¹ seperti yang dirujuk oleh Brugnerotto, *et al.* (2001) dan Junaidi, *et al.*, (2009) dalam persamaan 1.

$$DD = 100 - \left[\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times 115 \right] \dots \text{Persamaan 1.}$$

(Sumber : Junaidi, *et al.*, 2009)

Kadar nitrogen total ditentukan dengan metode kjedahl seperti yang dilakukan dalam penelitian (Chandumpai, *et al.*, 2004; Mizani dan Aminlari, 2007). Total nitrogen dalam kitin ditentukan dengan Persamaan 2.

$$\text{Total N} = \frac{(V_1 - V_2)N \times 14.007 \times f}{w.1000} \times 100 \% \dots \text{Persamaan 2.}$$

(Sumber : Chandumpai, *et al.*, 2004; Mizani dan Aminlari, 2007)

Kadar air ditentukan secara gravimetri dengan pemanasan pada temperatur 105°C selama 3 jam. Kadar abu ditentukan secara gravimetri dengan pengabuan pada temperatur 650°C selama 4 jam (Puvada, *et al.*, 2012).

Uji Aktivitas Biopestisida

Uji bioaktivitas kitin dapat dilakukan dengan mempelajari pengaruh konsentrasi

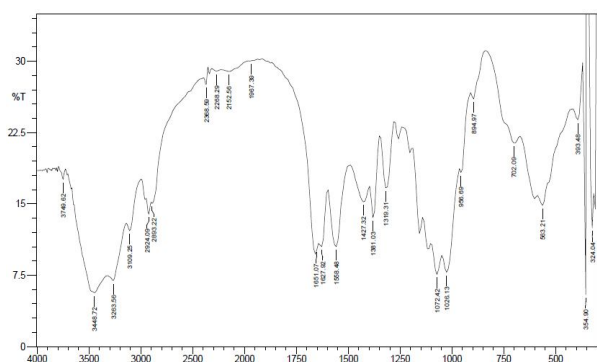
senyawa biopestisida terhadap tingkat mortalitasnya (Khan dan Qamar, 2011; Sujak dan Diana, 2012). Uji aktivitas biopestisida kitin dilakukan pada hama kutu putih kutu putih (*Bemisia tabaci*) pada tanaman jambu biji merah. Uji biopestisida dilakukan pada variasi konsentrasi 0,5 – 2 % kitin dalam asam asetat 3 % v/v. Daun yang terkena hama kutu putih dimasukkan ke dalam botol dan diberi dengan larutan kitin. Bioaktivitas kitin diamati dari tingkat mortalitas kutu putih (*Bemisia tabaci*).

Pembahasan

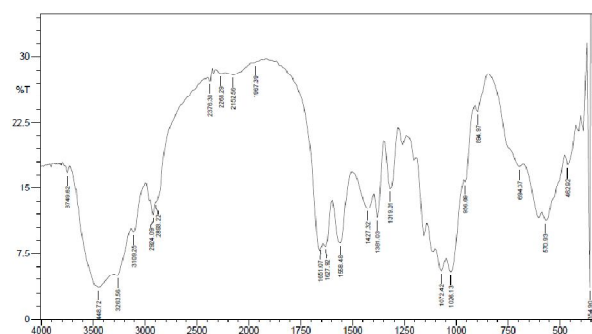
Penentuan sifat Fisikokimiawi

Karakterisasi kitin dengan data spektrofotometer inframerah (IR) dapat ditunjukkan pada Gambar 1 dan Gambar 2.

Konsentrasi larutan NaOH tidak memberikan perbedaan yang berarti terhadap spektra inframerah (IR) seperti yang diberikan pada Gambar 1 dan Gambar 2. Konsentrasi larutan NaOH dalam reaksi deproteinasi tidak memberikan perbedaan pita serapan kitin dan kitosan (Junaidi, et al., 2009).



Gambar 1. Spektra IR kitin (1M)



Gambar 2. Spektra IR kitin (2M)

Spektra IR kitin menunjukkan adanya vibrasi ulur gugus –OH alifatik yang terikat pada setiap unit monomer kitin pada bilangan gelombang $3348,72\text{ cm}^{-1}$, vibrasi ulur -NH dari gugus asetamida pada $1558,43\text{ cm}^{-1}$, vibrasi ulur –C=O dari gugus asetamida pada $1651,07\text{ cm}^{-1}$, vibrasi ulur –C-N- dari gugus asetamida pada $1319,31\text{ cm}^{-1}$, vibrasi ulur –C-H- dari -CH₃ pada $1381,03\text{ cm}^{-1}$ dan vibrasi –C-O-C- dari glukosamin pada $1072,43$ dan $1026,13\text{ cm}^{-1}$.

Konsentrasi larutan NaOH mempengaruhi besarnya derajat deasetilasi kitin. Derajat deasetilasi kitin ditentukan dengan spektrofotometri inframerah (IR) menggunakan metode baseline Baxter dengan membandingkan absorbansi pada $1651,07\text{ cm}^{-1}$ dan $3348,72\text{ cm}^{-1}$ (Brugnerotto, 2001 dan Junaidi, et al., 2009). Adanya perbedaan derajat deasetilasi kitin ini juga ditunjukkan dari perbedaan intensitas serapan untuk vibrasi ulur –C=O dari gugus asetamida pada $1651,07\text{ cm}^{-1}$.

Derajat deasetilasi hasil deproteinasi dengan larutan NaOH 2 M adalah 13,61 % lebih tinggi dari hasil deproteinasi dengan larutan

NaOH 1 M sebesar 8,80 %. Perbedaan derajat deasetilasi kitin masih berada pada kisaran 5 – 15 % (Cheba, 2011).

Hasil pengujian kadar abu, air, dan kadar nitrogen menunjukkan adanya rasio molar C : H : O : N hasil deproteinasi kitin dengan NaOH 1 M dan 2 M adalah 17:39:20:4 dan 16:45:22:1.

Tabel 1. Derajat Deasetilasi (DD) dan Rasio C:H:O:N

Kitin (NaOH)	DD (%)	Rasio molar			
		C	H	O	N
Kitin (1M)	8,80	17	39	20	4
Kitin (2M)	13,61	16	45	22	1

Larutan NaOH 2 M mampu melepaskan protein yang terikat pada cangkang udang lebih besar daripada kemampuan larutan NaOH 1 M. Efektivitas larutan NaOH pada reaksi deproteinasi kitin dapat ditunjukkan dari besarnya kadar nitrogen. Rasio nitrogen yang terkandung dalam kitin hasil deproteinasi dengan NaOH 1 M lebih besar apabila dibandingkan dengan hasil deproteinasi kitin dengan NaOH 2 M.

Uji Aktivitas Biopestisida

Hasil uji aktivitas biopestisida kitin terhadap mortalitas hama kutu putih (*Bemisia tabaci*) pada daun jambu biji merah menunjukkan adanya pengaruh efektifitas deproteinasi kitin terhadap bioaktivitasnya, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.

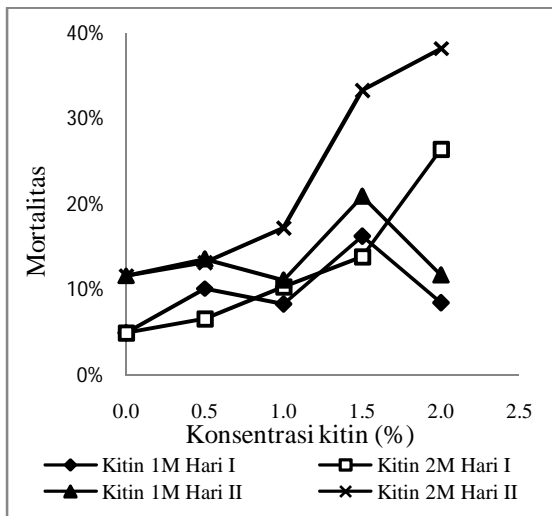
Pengaruh efektifitas hasil deproteinasi terhadap aktivitas biopestisida yang diberikan

pada Gambar 2 menunjukkan bahwa kitin dapat mempengaruhi tingkat mortalitas hama kutu putih (*Bemisia tabaci*). Mortalitas hama kutu putih (*Bemisia tabaci*) dipengaruhi oleh konsentrasi kitin dan sifat fisikokimiawi kitin. Kitin hasil reaksi deproteinasi dengan larutan NaOH 2 M dan memiliki derajat deasetilasi lebih tinggi dapat meningkatkan tingkat mortalitas hama kutu putih (*Bemisia tabaci*) hingga 4,51 % lebih tinggi dibandingkan dengan hasil deproteinasi dengan larutan NaOH 2 M, yaitu 3,5 % dalam perlakuan selama 2 hari.

Hasil uji aktivitas pestisida terhadap hama kutu putih ini juga menunjukkan adanya pengaruh konsentrasi kitin terhadap tingkat mortalitas hama. Konsentrasi biopestisida akan menaikkan tingkat mortalitas hama, sehingga semakin tinggi konsentrasi senyawa aktif biopestisida akan semakin meningkatkan bioaktivitasnya (Khan dan Qamar, 2011; Sujak dan Diana, 2012).

Tabel 2. Uji Aktivitas Biopestisida Kitin terhadap Mortalitas Kutu Putih (*Bemisia tabaci*)

Konsentrasi (%)	Mortalitas (%)	
	Hari I	Hari II
0	5,00	11,67
Kitin(1M)		
0,5	10,17	13,56
1,0	8,33	11,11
1,5	16,28	20,93
2,0	8,51	11,70
Kitin(2M)		
0,5	6,59	13,19
1,0	10,34	17,24
1,5	13,89	33,33
2,0	26,47	38,24



Gambar 3. Pengaruh Kitin terhadap Mortalitas Hama Kutu Putih

Kemampuan kitin dalam mengurangi hama kutu putih selama perlakuan 2 hari rata-rata mencapai tingkat mortalitas sebesar 13,83%. Kitin yang memiliki derajat deasetilasi lebih tinggi mempunyai bioaktivitas yang lebih besar dengan tingkat mortalitas mencapai hingga 38,24%.

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya pengaruh efektivitas deproteinasi terhadap aktivitas kitin sebagai biopestisida. Reaksi deproteinasi kitin akan meningkatkan jumlah sisi aktif gugus asetamida dan gugus hidroksil yang terikat pada cincin glukosamin. Gugus tersebut yang dapat memberikan respon biologis dalam menghambat pertumbuhan sel (Yanti, *et al.*, 2009). Kitin mempunyai kemampuan sebagai inhibitor (Khan dan Qamar, 2011) sehingga apabila sisi aktif pada gugus tersebut tidak

berikatan dengan protein dalam cangkang udang maka bioaktivitasnya akan semakin meningkat.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Konsentrasi larutan NaOH 2 M yang digunakan dalam preparasi kitin mampu meningkatkan efektivitas reaksi deproteinasi kitin dibandingkan dengan larutan NaOH 1 M, sehingga berpengaruh pada besarnya derajat deasetilasi kitin dan besarnya rasio molar total nitrogen.
2. Efektivitas reaksi deproteinasi mempengaruhi besarnya aktivitas biopestisida pada hama kutu putih (*Bemisia tabaci*) sehingga akan meningkatkan tingkat mortalitas hama.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kami ucapkan kepada Saudara Ida, Erna, dan Aim atas bantuannya dalam penelitian ini.

Pustaka

- Arbia, W., Arbia, L. Lydia Adour, L., Amrane, A., 2013, Chitin extraction from crustacean shells using biological methods – a review. *Food Technol. Biotechnol*, **51**, 12–25
- Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goycoolea, F.M., Monal, W.A.E., Ares J.D., 2001, An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization, *Polymer*, **42**, 3569-3580
- Chandumpai, A. Singhpibulporn, N., Faroongsarng, D., Sornprasit, P., 2004, Preparation and physico-chemicals

- characterization of chitin and chitosan from the pens of squid species, *Ioligo lessoniana* and *Ioligo formosana*. *Carbohydrate Polymer*, **58**, 467-474
- Cheba, B.A., 2011, Chitin and chitosan : marine biopolymers with unique properties and versatile application, *Global Journal of Biotechnology & Biochemistry*, **6**, 149-153
- Junaidi, A.B., Kartini, I., Rusdiarso, B. (2009) Chitosan preparation with multistage deacetylation of chitin and investigation of its physicochemical properties, *Indo. J. Chem.*, **9**, 369-372
- Khan, I., Qamar, A., 2011, Biological activity of andalin (flucyclohexuron), a novel chitin synthesis inhibitor, on red cotton stainer *Dysdercus koenigii* (Fabricius), *Research Article Biology and Medicine*, **3**, 324-335
- Kumirska, J., Weinhold, M.X., Thoming, J., Stepnowski, P., 2011, Biomedical activity of chitin/chitosan based materials influence of physicochemical properties apart from molecular weight and degree of N-acetylation, *Polymers*, **3**, 1875-1901
- Mizani, A.M., Aminlari, B.M., 2007, A new process for deproteinization of chitin from shrimp head waste, *Proceedings of European Congress of Chemical Engineering (ECCE-6)*, Diselenggarakan di Copenhagen
- Puvvada, Y.S., Vankayalapati, S., Sukhavasi, S., 2012, Extraction of chitin from chitosan from exoskeleton of shrimp for application in the pharmaceutical industry, *International Current Pharmaceutical Journal*, **1**, 258-263
- Sujak, Diana, N.E. (2012) Uji Efektivitas Ekstrak Nikotin Formula 1 (Pelarut Ether) terhadap Mortalitas *Aphis gossypie* (Homoptera aphididae) Agrovigor 5(1) : 47 – 51, 2012
- Yanti, S.D., Nugroho, P.T., Aprisa, R. Mulyana, E., 2009, The potential of chitosan as alternative biopesticide for postharvest plants, *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, **Special Issue**, 241-248