

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KOMPLEKS KITOSAN MONOSAKARIDA
(Chitosan Monosaccharides Complex)***[Antioxidative activity of chitosan monosaccharides complex]***Selly Ratna Sari, Ace Baehaki*, Shanti Dwita Lestari**Program Studi Teknologi Hasil Perikanan
Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya Indralaya Ogan Ilir**ABSTRACT**

The purpose of this research was to observe antioxidative activity of chitosan monosaccharides complex. The research was conducted in May until June 2013 at chemistry and microbiology laboratory, study program of agricultural technology. All treatment are chitosan, chitosan glucose complex, chitosan galactose complex and chitosan fructose complex using a invitro testing. The parameters were brown color analysis, analysis antioxidant activity with DPPH and reducing power method. The result showed that all chitosan monosaccharides complex demonstrated better antioxidative than chitosan. It is indicated that Maillard reaction product (MRP) exhibited antioxidant activity. The brown color analysis (0.031-0.224), antioxidant antioxidant analysis with DPPH method of IC₅₀ (92-131 ppm) and reducing power method was 1.059-1.274. Chitosan galactose complex (A2) is the best to antioxidative from all treatments. Chitosan monosaccharides complex could be used as natural preservatives, edible packaging (film and coating) and food additive.

Keyword : *chitosan, monosaccharides, MRP, antioxidant***1. PENDAHULUAN****A. Latar Belakang**

Indonesia merupakan salah satu negara produsen udang terbesar di dunia. Udang umumnya diekspor dalam bentuk beku, seperti tanpa kepala, ekor dan kulit. Proses pengolahan ini menghasilkan limbah cangkang krustasea (udang) yang berlimpah. Salah satu cara untuk memanfaatkannya adalah membuat kitosan.

Sekitar 60-70% bagian dari udang yang digunakan dalam pembuatan kitosan (Sihombing, 2006). Kitosan diisolasi dari kulit udang, rajungan, kepiting dan beberapa kulit serangga. Sifat kitosan yang memiliki gugus amina bebas bermuatan positif dapat berikatan dengan muatan negatif pada dinding sel bakteri. Hal tersebut membuat kitosan banyak digunakan dalam berbagai bidang terutama sebagai antibakteri.

Kitosan digunakan dalam industri makanan, pengolahan air, pertanian, pengolahan limbah, bioteknologi, kosmetik, dan kesehatan. Kitosan juga dimanfaatkan sebagai koagulan untuk diaplikasi dalam pengolahan limbah (Synoweick dan Al khateeb 2003). Kitosan juga banyak dimanfaatkan sebagai bahan penghambat bakteri yang dapat melindungi pangan dari kerusakan, akan tetapi kitosan masih memiliki beberapa kelemahan (Rao *et al.*, 2005).

Kelemahan dari kitosan adalah belum menghasilkan antioksidan secara optimal. Bahkan dalam berbagai aplikasi kitosan cenderung mudah rapuh dan pecah. Hal ini dapat diatasi dengan penambahan bahan dan modifikasi kitosan.

Modifikasi yang tepat dapat menghasilkan senyawa antioksidan dan antibakteri yang baik dibandingkan penggunaan kitosan saja.

Penambahan glukosa 1% di dalam kitosan 1% dan asam asetat 1% yang telah disterilisasi disebut kompleks kitosan glukosa (*chitosan glucose complex*) terbukti dapat melawan bakteri perusak makanan dan bakteri patogen serta memiliki antioksidan (Kanatt *et al.*, 2007). Sedangkan penambahan berbagai macam gula (glukosa, fruktosa, laktosa, arabinosa dan galaktosa) dapat menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus*. Reaksi Maillard terbentuk pada proses sterilisasi antara gula dan gugus amina. Reaksi Maillard menghasilkan senyawa reduktan terhadap radikal bebas sehingga dapat membentuk antioksidan yang lebih baik.

Penelitian sebelumnya menunjukkan CGC memiliki aktivitas antioksidan serta potensial digunakan sebagai bahan pengawet. Sedangkan fruktosa dan galaktosa menghasilkan antioksidan paling efektif dibandingkan beberapa gula yang diuji (Mahae *et al.*, 2011). Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan 3 monosakarida tersebut sehingga dinamakan kompleks kitosan monosakarida. Diharapkan kompleks kitosan monosakarida dapat menghasilkan antioksidan lebih baik dibandingkan penggunaan kitosan saja secara biasa.

B. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada kompleks kitosan monosakarida.

C. Hipotesis

Diduga penambahan kitosan dengan perbedaan jenis monosakarida seperti glukosa, galaktosa dan fruktosa menjadi kompleks kitosan monosakarida berpengaruh nyata terhadap aktivitas antioksidan.

II. PELAKSANAAN PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia dan Mikrobiologi Teknologi Hasil Pertanian Universitas Sriwijaya Indralaya. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai Juni 2013.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi *aluminium foil*, autoklaf, botol semprot, bunsen, erlenmeyer, gelas piala (*beaker glass*), gelas ukur, inkubator, kuvet, labu ukur, *magnetic stirrer*, mikropipet, neraca analitik, pemanas listrik (*hot plate*), penggaris, pinset, pipet tetes, spatula, spektrofotometer, tabung reaksi, timbangan analitik, tip dan *Vortex*.

Bahan utama penelitian ini adalah kitosan dari PT. Vital House Indonesia. Tambahan bahan antara lain glukosa, galaktosa, fruktosa dan aquades. Bahan kimia yang digunakan untuk analisa yaitu 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), metanol, asam asetat (CH_3COOH), trikloroasetat (TCA), besi (III) klorida (FeCl_3) 0.1%, buffer fosfat 0,2 M pH 6, 6 dan kalium ferrisianida ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$).

C. Metodologi Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak dua kali. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

A0:1%Kitosan+1% Asam Asetat

A1:1%Kitosan+1%A. Asetat+1%Glukosa

A2:1%Kitosan+1%A. Asetat+1%Galaktosa

A3:1%Kitosan+1%A. Asetat+1%Fruktosa

D. Cara Kerja

1. Preparasi larutan asam asetat

Asam asetat glasial diambil sebanyak 1,02 ml (98% menjadi 1%) dan ditambahkan dengan aquades hingga mencapai 100 ml atau sampai garis tanda, kemudian dihomogenkan.

2. Pembuatan larutan kitosan dengan variasi monosakarida

Kitosan ditimbang sebanyak 1 g (1%) dan dimasukkan ke dalam gelas beaker, dilarutkan dengan 1% larutan asam asetat sebanyak 50 ml dan distirer selama ± 30 menit (sampai homogen). Setelah homogen ditambahkan sebanyak 1 g (1%)

monosakarida (glukosa, fruktosa dan galaktosa), kemudian volume disesuaikan hingga 100 ml menggunakan labu ukur.

3. Pembuatan kompleks kitosan monosakarida

Larutan yang sudah dicampur kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

E. Parameter

Parameter yang diamati pada penelitian ini meliputi analisis warna coklat reaksi Maillard, analisis antioksidan (DPPH dan daya reduksi)

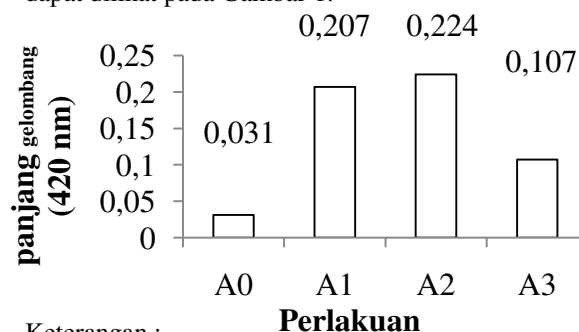
F. Analisis Data

Data yang diperoleh diuji dengan analisis ragam (uji F) dan jika hasil uji F ada pengaruh perlakuan yang berbeda nyata akan dilanjutkan dengan uji lanjut BNJ (Beda Nyata Jujur).

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Analisis warna coklat

Reaksi Maillard adalah reaksi antara protein (asam amino bebas) dan senyawa karbonil khususnya yang berasal dari gula pereduksi sehingga menghasilkan senyawa yang berwarna coklat. Pada penelitian ini senyawa asam amino bebas terdapat pada kitosan dan senyawa karbonil atau gula pereduksi adalah dari glukosa, galaktosa dan fruktosa. analisis warna coklat dengan spektrofotometer merupakan salah satu cara sederhana untuk mengetahui tingkat atau intensitas pencoklatan dari setiap sampel. Nilai rerata absorbansi berkisar antara 0,031 sampai 0,224. Nilai rerata absorbansi warna coklat dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1.



Keterangan :

A0:1%Kitosan+1% Asam Asetat

A1:1%Kitosan+1%A. Asetat+1%Glukosa

A2:1%Kitosan+1%A. Asetat+1%Galaktosa

A3:1%Kitosan+1%A. Asetat+1%Fruktosa

Gambar 1. Absorbansi warna coklat kompleks kitosan monosakarida

Gambar 1 menunjukkan warna kompleks kitosan galaktosa (A2) paling coklat diantara kompleks kitosan glukosa (A1) dan kompleks kitosan fruktosa (A3) karena pada reaksi ini adanya pembentukan glikosamina yang tersubstitusi pada gugus N yang terdapat pada kitosan. Glikosamina merupakan molekul yang berperan dalam pembentukan senyawa amino untuk membentuk pigmen coklat (deMan 1997). Selain itu, dikarenakan galaktosa memiliki gugus fungsi aldehyd pada atom C berbeda sedangkan glukosa hanya gugus fungsinya aldehyd dan fruktosa gugus fungsinya keton pada ujung C pertama (Winarno, 2004). Galaktosa juga memiliki gula pereduksi lebih banyak sehingga menghasilkan absorbansi tertinggi karena melanoidin lebih banyak. Diperkuat dengan pernyataan deMan (1997) bahwa ketiga macam monosakarida ini mengandung jenis dan jumlah atom yang sama yaitu 6 atom karbon, 12 atom hidrogen dan 6 atom oksigen. Perbedaan ketiga monosakarida ini terletak pada susunan atom yang menyebabkan perbedaan dalam tingkat kemanisan, daya larut dan sifat lain monosakarida yang membuat hasil warna reaksi Maillard yang berbeda.

Berdasarkan analisa sidik ragam menunjukkan bahwa perbedaan monosakarida (glukosa, galaktosa dan fruktosa) berpengaruh nyata teradap warna kompleks kitosan monosakarida pada taraf uji 5%. Hasil uji lanjut BNJ terhadap absorbansi warna coklat kompleks kitosan monosakarida dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Uji lanjut BNJ terhadap warna coklat kompleks kitosan monosakarida

Perlakuan	Rerata warna kecoklatan	BNJ
A0	0,031	a
A3	0,107	a
A1	0,207	b
A2	0,224	b

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berarti berbeda tidak nyata, jika hurufnya berbeda berarti berbeda nyata.

Hasil uji lanjut BNJ pada perlakuan A0 berbeda nyata terhadap A1 dan A2 sedangkan A3 (kompleks kitosan fruktosa) tidak berbeda nyata terhadap A0 yaitu larutan kitosan tanpa monosakarida karena warna dari perlakuan A3 tidak begitu berbeda dari warna perlakuan A0. Warna coklat dan nilai absorbansi pada keempat perlakuan yaitu kitosan, kompleks kitosan glukosa, kompleks kitosan galaktosa dan kompleks kitosan fruktosa dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan. Hal tersebut

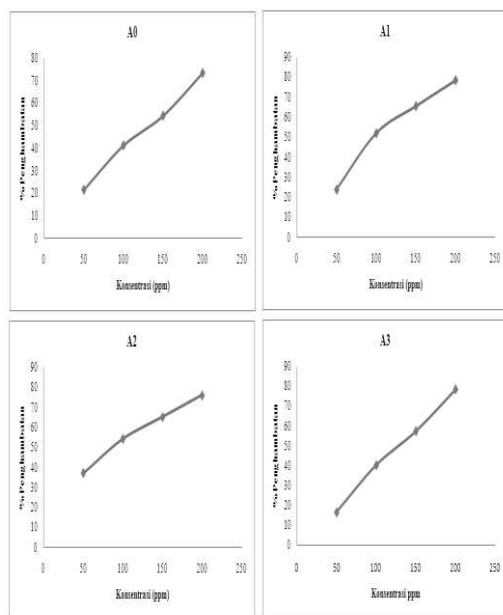
terbentuk karena adanya asam amino dan gula pereduksi pada suatu proses, selain itu juga dipengaruhi oleh kondisi pemanasan (Buera *et al.*, 1987). Faktor tambahan dari terbentuknya warna coklat atau reaksi Maillard adalah dipengaruhi oleh kondisi kitosan dan bahan-bahan tambahan seperti glukosa, galaktosa dan fruktosa.

B. Aktivitas Antioksidan Kompleks Kitosan Monosakarida

1. Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH

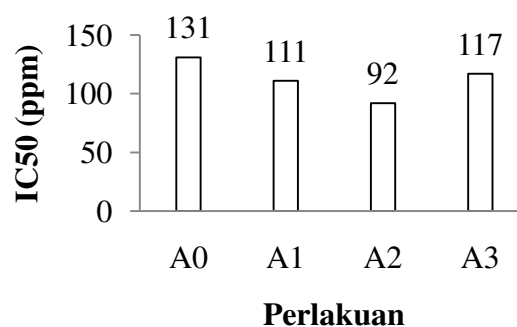
Analisis aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan 2 metode yaitu DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan metode daya Reduksi. Metode DPPH dan metode daya reduksi memiliki persamaan dalam menentukan aktivitas antioksidan. Akan tetapi, metode DPPH bertujuan untuk mengetahui berapa konsentrasi yang dipakai untuk menghambat radikal bebas sedangkan metode daya reduksi untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa antioksidan pada suatu sampel.

Kemampuan suatu senyawa atau sampel yang akan diuji untuk menangkap radikal bebas DPPH dapat menunjukkan indikasi bahwa suatu sampel uji tersebut memiliki aktivitas antioksidan. Penggunaan metode ini memiliki beberapa keuntungan seperti mudah digunakan, mempunyai tingkat sensitivitas yang tinggi dan dapat menganalisis sampel dalam jangka waktu yang singkat. Metode DPPH adalah suatu metode pengujian antioksidan dengan mengukur radikal sintetik yang telah dilarutkan dalam metanol atau etanol. Warna coklat yang bervariasi dihasilkan dari efek reaksi Maillard sebagai antiradikal yang efisien. Antioksidan dengan metode DPPH ini dibuat berbagai konsentrasi (200, 150, 100 dan 50 ppm) untuk menentukan persamaan regresinya dan persen penghambatan dari semua perlakuan. Terlihat semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi juga persen penghambatan seperti Gambar 2.



Gambar 2. Persen penghambatan dengan metode DPPH dengan berbagai konsentrasi monosakarida (A0=larutan kitosan A1=kompleks kitosan glukosa A2=kompleks kitosan galaktosa A3=kompleks kitosan fruktosa)

Berdasarkan Gambar 2 di atas, persen penghambatan dari setiap perlakuan mengalami peningkatan yaitu semakin besar konsentrasi semakin besar juga persen penghambatan. Nilai persen inhibisi didapat dari absorbansi sampel dan blanko sehingga nilai yang didapat dicari dengan persamaan regresi. Hal tersebut menandakan sampel memiliki antioksidan. Hasil analisa sidik ragam menunjukkan perbedaan monosakarida yang digunakan berpengaruh tidak nyata terhadap hasil IC_{50} dari setiap perlakuan. Parameter yang digunakan untuk uji penangkapan radikal DPPH adalah dengan melihat nilai IC_{50} . Semakin kecil nilai IC_{50} artinya semakin aktif suatu sampel yang diuji untuk menjadi senyawa antioksidan (Molyneux, 2004). Antioksidan tertinggi sampai terendah adalah A2, A1, A3 dan A0. Nilai rerata aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dapat dilihat pada Gambar 3.



Keterangan :

A0:1%Kitosan+1% Asam Asetat

A1:1%Kitosan+1%A. Asetat+1%Glukosa

A2:1%Kitosan+1%A.Asetat+1%Galaktosa

A3:1%Kitosan+1%A. Asetat+1%Fruktosa

Gambar 3. Nilai rerata IC_{50}

Gambar 3 menunjukkan bahwa larutan kitosan tanpa monosakarida dan kompleks kitosan monosakarida memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai yang bervariasi. Nilai IC_{50} berkisar antara 92 ppm sampai 131 ppm. Perlakuan A0 menghasilkan IC_{50} terbesar yaitu 131 ppm sedangkan perlakuan A2 menghasilkan nilai IC_{50} paling kecil yaitu sebesar 92 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa kompleks kitosan galaktosa merupakan sampel yang memiliki antioksidan paling tinggi dengan menggunakan metode DPPH ini, karena semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar kemampuan sampel merendam radikal bebas sebanyak 50% dari senyawa DPPH. Aktivitas antioksidan yang tinggi sebanding dengan Produk Reaksi Maillard (PRM) yang dihasilkan yaitu memperlihatkan warna coklat yang paling tinggi absorbansinya. Aktivitas antioksidan yang tertinggi kedua yaitu A1 yaitu 111 ppm sedangkan perlakuan A3 memiliki nilai IC_{50} sebesar 117 ppm. Perlakuan A2 memiliki aktivitas antioksidan lebih besar dibandingkan perlakuan A0, A1 dan A3

Semua sampel dari A0 sampai A3 memiliki nilai IC_{50} kurang dari 200 ppm, artinya semua sampel tergolong memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, akan tetapi belum melebihi aktivitas antioksidan pada asam askorbat yaitu 9,3 ppm (Yuhernita dan Juniarti, 2011). Diperkuat dengan pernyataan Hanani *et al.* (2005) suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 200 ppm

Larutan kitosan telah memiliki aktivitas antioksidan, mekanisme yang terbentuk yaitu adanya pengikatan radikal bebas oleh kitosan, gugus radikal OH^+ dari proses oksidasi lipida dapat bereaksi dengan ion hidrogen dari gugus ion ammonium (NH_3^+) pada kitosan sehingga menghasilkan suatu molekul yang lebih stabil dan menghasilkan senyawa antioksidan (Xie *et al.*, 2001). Selain itu, antioksidan menjadi lebih baik terbentuk dikarenakan adanya reaksi Maillard pada setiap penambahan serbuk

monosakarida. Reaksi Maillard mendonorkan hidrogen (*scavenger*) terhadap radikal bebas sehingga menjadi lebih stabil atau bertindak sebagai antioksidan. Hasil tersebut berbanding lurus dengan warna yang dihasilkan karena hasil reaksi Maillard warna perlakuan A2 menghasilkan intensitas warna coklat lebih kuat dibandingkan dengan sampel dengan penambahan glukosa atau fruktosa.

Reaksi Maillard mempunyai aktivitas antioksidan karena pada proses ini merupakan salah satu antioksidan yang dihasilkan dalam pengolahan. Reaksi Maillard dapat mencegah oksidasi lipid. Selain itu adanya senyawa 3-deoksiglukoson yaitu reaksi pembentuk warna coklat. Senyawa ini merupakan senyawa reduktan yang berpotensi sebagai antioksidan.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, kompleks kitosan monosakarida terbukti lebih baik dibandingkan kitosan saja. Antioksidan terbaik adalah perlakuan A2 (Kompleks kitosan galaktosa). Pada penelitian ini Intensitas warna kecoklatan berkisar 0,031-0,224 sedangkan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah 92-131 ppm dan daya reduksi adalah 1,059-1,274

B. Saran

Penelitian selanjutnya disarankan mengaplikasi kompleks kitosan monosakarida dalam pangan supaya dapat mengetahui secara pasti aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Akan tetapi, disarankan tidak digunakan untuk produk yang dapat menurunkan mutu suatu produk yang berhubungan dengan warna seperti surimi atau makanan yang biasa mengukur derajat putih.

DAFTAR PUSTAKA

- Buera, D.P., J. Chirife., S. L. Resnik. dan G. Wetzler. 1987. Nonenzymatic browning in liquid model systems of high water activity: Kinetics of color changes due to *Maillard* reaction between different single sugars and glycine and comparison with caramelization browning. *Journal of Food Science* 52 (4): 1063-1067.
- deMan, J. M. 1997. *Kimia Makanan*. Penerbit ITB. Bandung.
- Hanani, E., A. Mun'im ., R. Sekarini. 2005. Identifikasi senyawa antioksidan dalam spons *Callispongia* sp dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2:127- 133.
- Kanatt, S.R., C. Rhamesh. dan S. Arun. 2007. Chitosan glucose complex-anovel food preservative. *Food Chemistry* 106 : 521-528.
- Mahae, N., C. Chalata dan Muhamad. 2011. Antioxidant and antimicrobial properties of chitosan sugar complex. Thailand. *Journal International Food Research*. 18 (4) : 1543-1551.
- Rao. M., S. Chander. dan A. Sharma. 2005. Development of shelfstable intermediate-moisture meat products using active edible coating and irradiation and mayonnaise-based shrimp salads. *Journal of food protection*. 63: 202-209.
- Sihombing, M. 2006. Pengaruh Sinar Laser Energi Rendah terhadap Pembentukan Kalus pada Proses Penyembuhan Fraktur Tulang Tibia Tikus Putih (*Rattus novergicus*). Tesis. Pascasarjana Universitas Airlangga. pp: 19-21.
- Winarno, F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia. Jakarta.
- Xie, W. P. Xu dan. Q. Liu. 2001. Antioxidant activity of water-soluble chitosan derivatives. *Bioorg Med Chem Lett* 11 : 1699-1701.
- Yuhernita dan Juniarti. 2011. Analisis senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol daun surian yang berpotensi sebagai antioksidan. *Makara, Sains*. 15 (1) : 48-52.