



## **Aktivitas Antioksidan Kitosan yang Diproduksi dari Cangkang Kerang Sumping (*Amusium sp*) dan Kerang Darah (*Anadara sp*)**

**Nadya Cakasana<sup>\*)</sup>, Jusup Suprijanto, Agus Sabdono**

*Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas*

*Diponegoro Kampus Tembalang, Semarang 50275 Telp/Fax. 024-7474698*

Email : [Journalmarineresearch@gmail.com](mailto:Journalmarineresearch@gmail.com)

### **A B S T R A K**

Limbah cangkang kerang sumping dan kerang darah di Semarang merupakan jenis limbah hasil perikanan yang pengolahannya belum maksimal sehingga masih menjadi masalah lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas kitosan dua bagian cangkang kerang sumping dengan warna berbeda dan cangkang kerang darah yang dapat dilihat dari derajat deasetilasinya serta mengetahui aktivitas antioksidan dari kitosan ketiga jenis cangkang tersebut. Pembuatan kitosan dilakukan dengan proses demineralisasi, deproteinasi, dan deasetilasi. Uji derajat deasetilasi dilakukan dengan metode spektroskopi FTIR dan uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Uji proksimat kitosan setiap cangkang dilakukan untuk memperoleh data pendukung. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April – Mei 2014. Sampel cangkang diambil dari Tambak Lorok, Semarang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa derajat deasetilasi kitosan cangkang sumping merah sebesar 66,27%, kitosan cangkang sumping putih sebesar 71,37%, sedangkan pada kitosan cangkang kerang darah sebesar 69,72%. Hasil uji DPPH menunjukkan persentase negatif pada masing-masing ketiga sampel kitosan cangkang yang ditandai dengan tidak adanya perubahan warna pada DPPH. Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa ketiga sampel kitosan cangkang tidak memiliki aktivitas antioksidan sebagai senyawa penangkal radikal bebas.

**Kata Kunci :** *Amusium sp, Anadara sp, Cangkang Kerang, Kitosan, Antioksidan*

### **A B S T R A C T**

Scallop and cockle shell waste are fishery waste which have not been processed well so they created an environment problem. The purposes of this study were to determine the quality of the chitosan of two-part scallop shells with different colors and blood cockle shells that could be seen from its deacetylation degree and to determine the antioxidant activity of the three types of chitosan shells. The making of chitosan was done by the process of demineralization, deproteinization, and deacetylation. The deacetylation degree test was done by FTIR spectroscopy method and antioxidant properties were measured by DPPH test method. Proximate test of chitosan of each shell was done to gain supporting data. This research was done from April to May 2014. Shell samples were collected from Tambak Lorok, Semarang. The results showed that the degree of deacetylation of the chitosan of the red-part scallop shell was 66.27%, white-part scallop shell chitosan was 71.37%, while the blood cockle shell chitosan was 69.72%. DPPH test results showed a negative percentage in each of the three samples of chitosan shell characterized by the absence of color changes in DPPH. Based on these results it could be concluded that all three samples of chitosan shell did not have antioxidant activity as free radical scavengers compounds.

**Keywords :** *Amusium sp, Anadara sp, Clam Shell, Chitosan, Antioxidant*

<sup>\*)</sup> Penulis penanggung jawab



## PENDAHULUAN

Kerang merupakan salah satu komoditiperikanan Indonesia yang mengalami kenaikan tiap tahunnya (Ditjen Pengolahan Pemasaran Hasil Perikanan, 2012). Jenis kerang-kerang tersebut di antaranya kerang simping (*Amusium sp*) dan kerang darah (*Anadara sp*). Kerang simping dapat ditemukan di sepanjang pesisir utara Jawa Tengah (Brebes, Tegal, Pemalang, Weleri-Kendal, dan Semarang) dan Jawa Timur (Tuban, Pasuruan). Produksi kerang simping mengalami peningkatan di Indonesia. Produksi tahun 2001 sekitar 419 ton, tahun berikutnya meningkat menjadi 948 ton dan tahun 2003 1008 ton. Pada tahun 2004 mengalami penurunan menjadi 731 ton. Kemudian pada tahun 2005 dan 2006 mengalami peningkatan menjadi 1.404 ton dan 1.728 ton (Susilowati *et al.*, 2008; Ditjen Pengolahan Pemasaran Hasil Perikanan, 2008).

Kerang darah (*Anadara sp*) memiliki nilai ekonomis tinggi dan banyak dikonsumsi masyarakat. Produksi kerang darah di Indonesia dari tahun 2008 hingga 2012 mengalami kenaikan sebesar 0,04% dan kenaikan sebesar 10,71% antara tahun 2011 sampai 2012 dengan produksi tertinggi pada tahun 2008 yaitu 47.437 ton (Ditjen Pengolahan dan Pemasaran Hasil Perikanan, 2012). Kerang darah di Pulau Jawa terpusat di perairan pesisir Jawa Timur, Jawa Tengah, Cirebon, dan Banten (Subani *et al.* 1989).

Tingginya jumlah kerang sebagai konsumsi sebanding dengan jumlah limbah yang dihasilkan. Selama ini limbah yang paling banyak ditemukan berupa cangkang atau kulit. Pemanfaatan limbah kulit kerang khususnya kerang simping dan kerang darah sangat kurang, karena selama ini hanya digunakan sebagai hiasan, pakan ternak dan campuran kosmetik. Sedangkan keberadaan kulit kerang semakin mengganggu lingkungan kampung nelayan dan merusak

keindahan. Jika limbah dibuang terus menerus tanpa adanya pengolahan yang baik dapat menimbulkan gangguan keseimbangan lingkungan, yang berupa lingkungan tidak berfungsi seperti semula dalam arti kesehatan, kesejahteraan, dan keselamatan hayati (Kusuma, 2012).

Saat ini banyak dilakukan penelitian mengenai pemanfaatan limbah dari kerang sehingga bermanfaat menjadi sumberdaya lain yang berbasis *zero waste*. *Zero waste* adalah suatu konsep yang mendukung segala tindakan atau usaha agar sama sekali tidak menghasilkan limbah yang dapat mencemari lingkungan (Sarbi, 2008). Menurut Sulistyoningrum (2013), beberapa macam jenis pemanfaatan limbah hasil perikanan antara lain pengolahan tepung dari kepala/kulit udang, pengolahan silase ikan, dan pengolahan kitin dan kitosan dari kulit/kepala udang.

Kitin dan kitosan merupakan senyawa golongan karbohidrat yang dapat dihasilkan dari limbah hasil laut, khususnya golongan udang, kepiting, ketam, dan kerang (Harini *et al.*, 2004). Beberapa penelitian tentang kitosan sudah pernah dilakukan, di antaranya adalah Pembuatan Kitosan Dari Limbah Cangkang Udang serta Aplikasinya dalam Mereduksi Kolesterol Lemak Kambing (Hargono *et al.*, 2008), Kitosan dari Limbah Kulit Rajungan sebagai Adsorben Zat Warna Biru Metilena (Tanasale *et al.*, 2011), dan Pembuatan Kitosan dari Kitin Cangkang Bekicot (*Achatina fulica*) (Kusumaningsih *et al.*, 2004).

Dalam bidang pangan, kitosan berfungsi sebagai pengawet alami, penyerap zat warna, dan antioksidan (Wiyarsi dan Priyambodo, 2009). Gugus amina yaitu  $NH_2$  pada kitosanlah yang memegang peran dalam penangkapan radikal bebas (Xie *et al.*, 2002). Penelitian sebelumnya mengenai kitosan yang digunakan sebagai senyawa antioksidan

\*) Penulis penanggung jawab



antara lain *Anticoagulant and antioxidant activity of sulfated chitosan from the shell of donacid clam Donax scortum* (Linnaeus, 1758) (Subhapradha *et al.*, 2013), *Antioxidant and microbial properties of chitosan-sugar complex* yang dilakukan (Mahae *et al.*, 2011), dan *Antioxidant Activity of the Chitosan Extracted from Shrimp Exoskeleton* (Rajalakshmi *et al.* 2013).

## **MATERI DAN METODE**

### **Materi Penelitian**

Materi penelitian ini menggunakan limbah cangkang kerang dari limbah kerang simping (*Amusium sp*) dan kerang darah (*Anadara sp*) yang diambil dari Tambak Lorok, Semarang. Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro.

### **Metode Penelitian**

Metode penelitian yang dipakai adalah metode deskriptif eksploratif. Penelitian ini merupakan penelitian *non*-hipotesa yang bertujuan untuk menggambarkan suatu keadaan atau fenomena serta mengetahui hal-hal yang berhubungan dengan keadaan sesuatu, sehingga dalam penelitian ini tidak perlu merumuskan hipotesis (Arikunto, 1986). Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis secara deskriptif.

#### **a. Preparasi Sampel**

Cangkang kerang simping dipisah sesuai dengan warnanya yaitu merah dan putih. Masing-masing cangkang kerang dicuci dan dikeringkan, kemudian digiling dengan mesin penggiling dan diayak dengan sieve shaker, lalu diambil sampel dengan ukuran butir 350 $\mu$ m.

#### **b. Demineralisasi dan Deproteinasi Menjadi Kitin**

Proses pembuatan kitin mengikuti metode No *et al.* (1989) yang telah dimodifikasi oleh Hargono *et al* (2008). Proses demineralisasi (proses penghilangan mineral) dilakukan dengan HCl 1 M, pada suhu 25 - 30°C, dan diaduk selama 120 menit. perbandingan

tepung cangkang dan HCl dalam proses demineralisasi yaitu 1:10 (gram/ml). Residu yang diperoleh dari proses demineralisasi dicuci dan dikeringkan. Randemen dari proses demineralisasi kemudian dilanjutkan proses deproteinase (proses penghilangan protein) dengan larutan NaOH 1 M pada suhu 60 - 70°C dan diaduk selama 60 menit, perbandingan tepung dan NaOH dalam proses deproteinasi ini yaitu 1:10 (gram/ml). Residu yang diperoleh dari proses deproteinasi disaring sehingga diperoleh padatan bebas dari kandungan protein, kemudian dicuci dengan *aquadest* hingga diperoleh pH netral. Selanjutnya yaitu proses depigmentasi atau penghilangan warna. Depigmentasi dilakukan dengan diekstrak dengan aseton selama 5 menit. Perbandingan aseton dengan sampel adalah 1:10 (gram/ml). Setelah diekstrak, selanjutnya *dibleaching* dengan NaOCl 0,315% selama 20 menit. Perbandingan NaOCl dengan sampel yaitu 1:10 (gram/ml). Selanjutnya sampel dicuci dengan *aquadest* hingga pH netral, dikeringkan dengan oven, dan diperoleh kitin. Perlakuan ini sama pada setiap sampel cangkang yaitu cangkang simping berwarna merah, putih, dan cangkang kerang darah.

#### **c. Deasetilasi Kitin Menjadi Kitosan**

Proses pembuatan kitosan mengikuti metode No *et al.* (1989) yang telah dimodifikasi oleh Hargono *et al* (2008). Proses deasetilasi (proses penghilangan gugus asetil) dilakukan setelah kitin diperoleh, yaitu dengan menggunakan NaOH 50%, pada suhu 90 - 100°C, dan diaduk selama 1 jam. Perbandingan residu dan NaOH dalam proses deasetilasi yaitu, 1:20 (gram/ml). Rendemen yang diperoleh dalam proses deasetilasi disaring dan dicuci dengan *aquadest* hingga pH netral kemudian dikeringkan, sehingga diperoleh padatan yang berupa produk kitosan (Hargono *et al.*, 2008). Lakukan perlakuan yang sama pada setiap sampel cangkang kerang.

**d. Karakterisasi Gugus Fungsi Kitosan**

Gugus fungsi kitosan dikarakterisasi menggunakan FTIR (Kusumaningsih *et al.*, 2004). Sampel sebanyak 1 mg dicampur dengan 100 mg serbuk KBr danditumbuk hingga halus. Campuran tersebut dimampatkan dalam sebuah cetakan menggunakan pompa hidrolis sehingga membentuk kepingan tipis. Karakterisasi terhadap kepingan cuplikan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer FTIR Buck Scientific pada panjang gelombang antara 4000-5000  $\text{cm}^{-1}$ .

**e. Analisis Proksimat**

Analisis proksimat dilakukan untuk mengetahui kandungan nutrisi antara lain air, mineral, protein, dan karbohidrat pada kitosan agar dapat diketahui ada atau tidaknya perbedaan dari tiap bahan kitosan. Analisis yang digunakan mengacu pada metode AOAC.

**Kadar Air**

Cawan porselen dikeringkan dalam oven pada suhu 102-105° C selama 15 menit. Cawan tersebut diletakkan ke dalam desikator (30 menit) dan dibiarkan sampai dingin kemudian ditimbang. Sampel kitosan ditimbang seberat 5 gram. Selanjutnya cawan yang telah diisi sampel dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 102-105° C selama 6 jam. Cawan tersebut dimasukkan ke dalam desikator dan dibiarkan sampai dingin kemudian ditimbang.

Perhitungan kadar air :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{B - C}{B - A} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Berat cawan porselen kosong (g)

B = Berat cawan porselen dengan kitosan (g)

C = Berat cawan porselen dengan kitosan setelah dikeringkan (g)

**Kadar Abu**

Cawan porselen dibersihkan dan dikeringkan di dalam oven bersuhu 105° C selama 30 menit. Cawan porselen tersebut dimasukkan ke dalam desikator

(30 menit) kemudian ditimbang. Sampel kitosan sebanyak 5 g dimasukkan ke dalam cawan porselen. Selanjutnya dibakar di atas kompor listrik sampai tidak berasap dan dimasukkan ke dalam tanur pengabuan dengan suhu 600° C selama 6 jam. Cawan dimasukkan di dalam desikator, dibiarkan sampai dingin kemudian ditimbang.

Perhitungan kadar abu :

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{C - A}{B - A} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Berat cawan porselen kosong (g)

B = Berat cawan porselen dengan kitosan (g)

C = Berat cawan porselen dengan kitosan setelah dikeringkan (g)

**Kadar Protein**

Tahap analisis protein terdiri dari tiga tahap yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi.

1) Tahap destruksi

Sampel kitosan seberat 1 gram dimasukkan ke dalam labu kjeldahl dan ditambahkan 0,25 gram selenium dan 10 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat. Tabung yang berisi larutan tersebut dimasukkan ke dalam alat pemanas sampai larutan menjadi hijau bening.

2) Tahap destilasi

Sampel yang telah didestruksi dilarutkan ke dalam labu takar 100 ml dengan *aquades*. Air bilasan juga dimasukkan ke dalam alat destilasi dan ditambahkan larutan NaOH 40% sebanyak 10 ml. Cairan dalam ujung tabung kondensor ditampung dalam erlenmeyer 125 ml berisi larutan  $\text{H}_3\text{BO}_3$  2% dan 3 tetes indikator (cairan *methyl red* dan *bromocresol green*) yang ada di bawah kondensor. Destilasi dilakukan sampai terjadi perubahan warna dari merah muda menjadi biru.

3) Tahap titrasi

Tahap titrasi dilakukan dengan menggunakan HCl 0,1 N sampai warna larutan pada erlenmeyer berubah warna menjadi merah muda kembali.



Perhitungan kadar protein :

$$\% \text{ nitrogen} = \frac{(ml \text{ HCl sampel} - ml \text{ HCl blanko}) \times N \text{ HCl} \times 14}{mg \text{ kitosan}} \times FP \times 100\%$$

% Kadar protein = % nitrogen x faktor konversia (6,25)

### Serat Kasar

Sampel sebanyak 1 gram dimasukkan dalam erlenmeyer ditambahkan 100 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,25% dan dipanaskan hingga mendidih. Setelah 1 jam ditambahkan 100 ml NaOH 3,25%, dipanaskan kembali sampai mendidih selama 1 jam, kemudian didinginkan dan disaring dengan kertas saring yang telah diketahui bobotnya. Endapan dicuci dengan asam sulfat encer dan alkohol, lalu kertas saring dan endapan dikeringkan dalam oven dan ditimbang.

Perhitungan serat kasar:

$$\% \text{ kadar serat kasar} = \frac{C - A}{B - A} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Berat sampel

B = Berat endapan

C = Berat abu

### Kadar Karbohidrat

Kadar karbohidrat dilakukan secara *by difference*, yaitu hasil pengurangan dari 100 % dengan kadar air, abu, protein, dan serat kasar sehingga kadar karbohidrat tergantung pada faktor pengurangan. Kadar karbohidrat dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Karbohidrat (\%)} = 100 \% - (\% \text{ abu} + \% \text{ air} + \% \text{ protein} + \% \text{ serat kasar})$$

### f. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengukuran aktivitas antioksidan diadaptasi dari metode Brand – William (1995). Pertama-tama sampel ditimbang 0,5 gr kemudian diekstrak dengan metanol selama 2 jam. Ekstrak diambil sebanyak 0,1 ml dan direaksikan dengan 3,9 ml larutan DPPH 6x10<sup>-5</sup> mol/L. Pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 515 nm. Metanol dipakai sebagai blanko. Aktivitas antioksidan terukur sebagai % *discoloration* dengan rumus:

% *discoloration*

$$= \left( 1 - \left( \frac{At_{30}}{At_0} \right) \right) \times 100$$

Keterangan:

At<sub>30</sub> = absorbansi DPPH oleh sampel

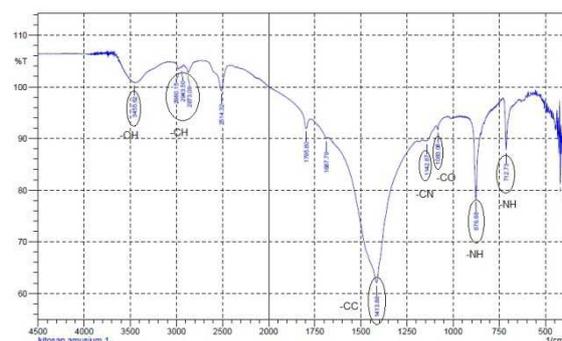
At<sub>0</sub> = absorbansi blanko

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik Kitosan dengan FTIR

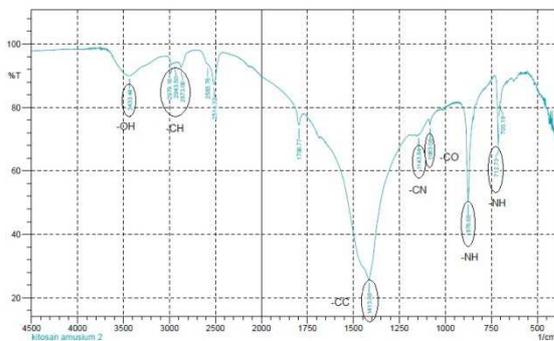
Spektroskopi FTIR merupakan metode yang banyak digunakan dalam menentukan derajat deasetilasi kitosan menurut usulan Domzy dan Robert (base line a) serta yang diusulkan oleh Baxter (base line b) (Brugnerotto *et al.*, M, 2001; Ming *et al.*, 2001; Khan *et al.*, 2002).

Hasil kitosan yang diperoleh dari cangkang kerang simping bagian berwarna merah (Gambar 1) menunjukkan adanya pita serapan hasil vibrasi rentangan gugus -OH dan -NH pada bilangan gelombang 3000-35000 cm<sup>-1</sup>. Serapan pada bilangan gelombang 2873,09 cm<sup>-1</sup>, 2943,5 cm<sup>-1</sup>, dan 2980,15 cm<sup>-1</sup> menginformasikan adanya gugus C-H dari alkana yang merupakan vibrasi ulur dari gugus -CH<sub>2</sub>-. Pada bilangan gelombang 2514,32 cm<sup>-1</sup> dapat diketahui adanya penghilangan gugus metil (-CH<sub>3</sub>) pada amida (-NHCOCH<sub>3</sub>) dan hilangnya gugus karbonil (C=O) suatu amida (-NHCO-) terlihat dari hilangnya pita serapan yang terdapat pada gelombang 1687,79 cm<sup>-1</sup> dan 1795,8 cm<sup>-1</sup>. Pada bilangan gelombang 712,73 cm<sup>-1</sup> dan 876,68 cm<sup>-1</sup> mengindikasikan serapan kitosan yaitu tekuk N-H dari amina (-NH<sub>2</sub>) (Silverstein *et al.*, 1986). Vibrasi ulur gugus -C-O- tampak pada pita serapan bilangan 1083,08 cm<sup>-1</sup>.



**Gambar 1.** Grafik Spektra Kitosan Cangkang Simpson Merah

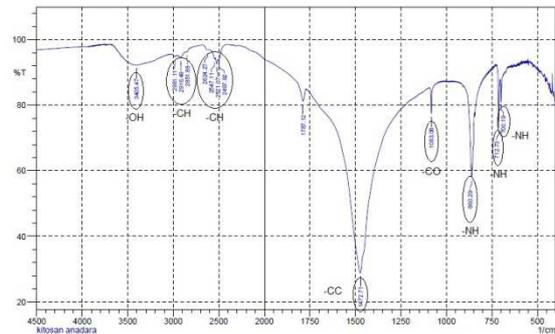
Pada kitosan yang diperoleh dari bahan cangkang kerang simping bagian berwarna putih (Gambar 2) menunjukkan adanya rentangan gugus -OH dan -NH pada pita serapan hasil vibrasi bilangan gelombang 3433,44  $\text{cm}^{-1}$  dan 3275,27  $\text{cm}^{-1}$ . Serapan pada bilangan gelombang 2873,09  $\text{cm}^{-1}$ , 2943,09  $\text{cm}^{-1}$ , dan 2980,15  $\text{cm}^{-1}$  menandakan adanya gugus C-H dari alkana yang merupakan vibrasi ulur dari gugus -CH<sub>2</sub>-. Pada bilangan gelombang 2583,76  $\text{cm}^{-1}$  dapat diketahui adanya penghilangan gugus metil (-CH<sub>3</sub>) pada amida (-NHCOCH<sub>3</sub>) dan hilangnya gugus karbonil (C=O) suatu amida (-NHCO-) terlihat dari hilangnya pita serapan yang terdapat pada gelombang 1796,77  $\text{cm}^{-1}$ . Pada bilangan gelombang 712,73  $\text{cm}^{-1}$  dan 876,68  $\text{cm}^{-1}$  mengindikasikan serapan kitosan yaitu tekuk N-H dari amina (-NH<sub>2</sub>) (Silverstein *et al.*, 1986). Vibrasi ulur gugus -C-O- tampak pada pita serapan bilangan 1083,08  $\text{cm}^{-1}$ .



**Gambar 2.** Grafik Spektra Kitosan Cangkang Simpson Putih

Pada kitosan yang diperoleh dari bahan cangkang kerang darah (Gambar 3) menunjukkan adanya rentangan gugus -OH pada pita serapan hasil vibrasi bilangan gelombang 3405,47  $\text{cm}^{-1}$ . Serapan pada bilangan gelombang 2851,88  $\text{cm}^{-1}$ , 2916,49  $\text{cm}^{-1}$ , dan 2981,11  $\text{cm}^{-1}$  menandakan adanya gugus C-H dari alkana yang merupakan vibrasi ulur dari gugus -CH<sub>2</sub>-. Pada bilangan gelombang 2624,27  $\text{cm}^{-1}$  dapat diketahui adanya penghilangan gugus metil (-CH<sub>3</sub>) pada

amida (-NHCOCH<sub>3</sub>) dan hilangnya gugus karbonil (C=O) suatu amida (-NHCO-) terlihat dari hilangnya pita serapan yang terdapat pada gelombang 1787,12  $\text{cm}^{-1}$ . Pada bilangan gelombang 712,73  $\text{cm}^{-1}$ , 843,89  $\text{cm}^{-1}$ , dan 860,29  $\text{cm}^{-1}$  mengindikasikan serapan kitosan yaitu tekuk N-H dari amina (-NH<sub>2</sub>) (Silverstein *et al.*, 1986). Vibrasi ulur gugus -C-O- tampak pada pita serapan bilangan 1083,08  $\text{cm}^{-1}$ .



**Gambar 3.** Grafik Spektra Kitosan Kerang Darah

Masing-masing kitosan mempunyai derajat deasetilasi yang berbeda-beda. Derajat deasetilasi dihitung dari hasil FTIR. Derajat deasetilasi kerang simping berwarna merah sebesar 66,27%, kerang simping berwarna putih sebesar 71,37%, dan kerang darah sebesar 69,72%.

**Rendemen**

Pada kitosan cangkang simping warna merah rendemen hasil proteinasi rata-rata sebesar 80,24%. Rendemen yang diperoleh dari hasil demineralisasi sebesar 58,65% dari hasil deproteinasi. Rendemen yang diperoleh dari hasil deasetilasi rata-rata sebanyak 71,46% dari hasil demineralisasi. Total kitosan yang dihasilkan kurang lebih sebesar 33,63% dari berat awal.

Pada kitosan cangkang simping warna putih rendemen hasil proteinasi rata-rata sebesar 85,28%. Rendemen yang diperoleh dari hasil demineralisasi rata-rata sebesar,03% dari hasil deproteinasi. Rendemen yang diperoleh dari hasil deasetilasi rata-rata sebanyak 66,56% dari hasil demineralisasi. Total kitosan



yang dihasilkan rata-rata sebesar 30,1% dari berat awal.

Pada kitosan cangkang kerang darah rendemen hasil proteinasi rata-rata sebesar 71,92%. Rendemen yang diperoleh dari hasil demineralisasi rata-rata sebesar 30,78% dari hasil deproteinasi. Rendemen yang diperoleh dari hasil deasetilasi rata-rata sebanyak 87,96% dari hasil demineralisasi. Total kitosan yang dihasilkan hanya sebesar 19,45% dari berat awal. Rendemen kitosan yang diperoleh dari material awal ditunjukkan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Rendemen Kitosan

Kitosan	Massa	Rendemen
Cangkang kerang simping merah	100 g	33,63%
Cangkang kerang simping putih	100 g	30,1%
Cangkang kerang darah	100 g	19,45%

### Analisis Proksimat

Analisis proksimat dilakukan untuk memperoleh komposisi kimia yang terkandung dalam kitosan. Komposisi kimia tersebut meliputi kadar air, kadar abu, kadar lemak, serat kasar, protein, dan karbohidrat. Kadar karbohidrat diketahui melalui perhitungan *by difference*.

Hasil yang diperoleh menunjukkan perbedaan yang tidak terlalu besar antara tiap sampel dengan komposisi kimia terbesar terletak pada kadar abu. Hasil kandungan kimia dari setiap sampel ditampilkan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Komposisi kimia dari masing-masing sampel kitosan

Komposisi	Sampel Kitosan		
	Kerang simping merah	Kerang simping putih	Kerang darah

Air (%)	0,1443	0,2764	0,3866
Abu (%)	97,994	98,172	97,776
	7	9	4
Lemak (%)	0,7529	0,8942	0,9284
Serat kasar (%)	0,5688	0,7057	0,8925
Protein (%)	0,0941	0,0839	0,0862
Karbohidrat (%)	1,1981	0,7611	0,8583

### Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH menurut Brand-William (1995). Masing-masing sampel diekstraksi dengan metanol selama 2 jam dan tiap ekstrak ditambahkan DPPH yang kemudian diukur absorbansinya. Pengukuran dilakukan dengan dua kali pengulangan. Ekstrak berisi DPPH selanjutnya akan berubah warna dari yang semula berwarna ungu menjadi kekuningan apabila terdapat kandungan antioksidan di dalamnya. Perubahan warna ungu menjadi kuning ini terjadi seiring dengan menurunnya absorptivitas molar dari molekul DPPH. Perubahan warna secara stoikiometri berdasarkan jumlah elektron yang tertangkap. Presentasi aktivitas penangkap radikal menunjukkan seberapa besar kemampuan antioksidan untuk menurunkan aktivitas radikal dari DPPH. Pada penelitian ini tidak terjadi perubahan warna pada setiap sampel.

Menurut perhitungan dari rumus pengukuran diskolorisasi oleh Brand-William (1995) ketiga sampel ini memiliki persentase kurang dari nol persen yang mengindikasikan tidak adanya aktivitas antioksidan yang dapat menghambat radikal DPPH. Hal ini kemungkinan dapat disebabkan karena memang tidak adanya aktivitas penghambat radikal bebas dalam material atau preparasi metode yang kurang tepat.

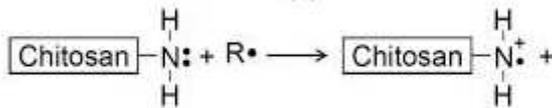
Hasil perhitungan uji aktivitas kitosan dari setiap sampel ditunjukkan pada Tabel

3 dengan hasil negatif pada ketiga sampel.

**Tabel 3.** Hasil Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan DPPH

Sampel	Persen Penghambat
Kitosan Cangkang Samping Warna Merah	-4,8469
Kitosan Cangkang Samping Warna Putih	-2.6966
Kitosan Cangkang Kerang Darah	-2,70865

Menurut Xie *et al.* (2002) gugus amina yaitu NH<sub>2</sub> pada kitosanlah yang berperan dalam penangkapan radikal bebas. Reaksi dari penangkapan radikal bebas oleh kitosan yaitu :



Dari hasil yang diperoleh, kitosan tidak dapat diukur aktivitas antioksidannya dengan menggunakan metode Brand-William (1985) dan harus mendapat beberapa perlakuan khusus. Perbedaan metode ini didasari oleh sifat-sifat kitosan yang tidak ditemukan pada material lain seperti larut dalam asam lemah organik pada pH tertentu, atau pada asam mineral dengan konsentrasi tertentu. Kelarutannya pun dipengaruhi oleh berat molekul dan derajat deasetilasi (Sugita, 2009). Berat molekul kitosan dan derajat deasetilasi dapat mempengaruhi kelarutan kitosan dalam suasana asam (Milot *et al.*, 1998). Apabila pelarut maupun perlakuan yang digunakan tidak sesuai maka kitosan tidak dapat berfungsi sebagai antioksidan sehingga diperlukan metode lain yang sesuai dengan sifat kitosan. Metode DPPH dari Brand-William termasuk metode yang umum digunakan

dan banyak dijumpai di berbagai publikasi namun tidak dapat berfungsi dengan maksimal pada sampel kitosan.

### KESIMPULAN

Derajat deasetilasi dari masing-masing sampel antara lain kitosan cangkang samping merah sebesar 66,27%, kitosan cangkang samping putih sebesar 71,37%, sedangkan pada kitosan cangkang kerang darah sebesar 69,72%. Sedangkan uji DPPH pada masing-masing kitosan adalah negatif atau tidak ditemukan adanya aktivitas antioksidan pada ketiga sampel.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada semua pihak dan instansi yang telah memberikan bantuan dan fasilitas dalam penulisan jurnal ilmiah ini.

### DAFTAR PUSTAKA

AOAC, 2005. *Official Method of Association of Analytical Chemist*. 12th Edition. Published by Association of Official Analytical Chemist. Benjamin Franklin Station. Washington.

Arikunto, S. M. 1993. *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktek Edisi Revisi*. Rineka Cipta, Jakarta, 378 hlm. Direktur Jendral Pengolahan dan Pemasaran Hasil Perikanan. 2012. *Statistik Ekspor Hasil Perikanan Menurut Komoditi, Provinsi dan Pelabuhan Asal Ekspor*. Pusat Data, Statistik, dan Informasi Sekretariat Jenderal, Kelautan dan Perikanan, Jakarta.

Brand-Williams, W., M.E. Cuvelier, dan C. Berset. 1995. *Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity*. *Lebensmittel-wissenschaft und Technologie*. Pages 28, 25-30.



- Brugnerotto, J., J. Lizardi, F. M. Goycoolea, M. W. Arguelles, J. Desbrieres, M. Rinaudo. 2001. *An infrared Investigation with Chitin and Chitosan Characterization*, Polymer, 42: 5369 – 3580.
- Ditjen Pengolahan Pemasaran Hasil Perikanan. 2008. *Scallop di Indonesia Belum Ngetop : Warta Pasar Ikan*. Edisi Juli 2008 No. 59 (hal : 6-7). Direktorat Pemasaran Dalam Negeri. Departemen Kelautan dan Perikanan, Jakarta.
- Hargono, Abdullah, dan I. Sumantri. 2008. *Pembuatan Kitosan dari Limbah Cangkang Udang Serta Aplikasinya dalam Mereduksi Kolesterol Lemak Kambing*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik UNDIP Semarang Reaktor, Vol. 12 No. 1. Hal. 53-57.
- Harini, N., S. Winarni, dan E. Setyaningsih. 2004. *Pemanfaatan Teknologi Pengolahan Limbah Kulit /Kepala Udang Menjadi Chitosan Untuk Ingredient Pembuatan Permen Di Home Industri Kebon Agung Kepanjen Malang*, Fak. Pertanian UMM, Malang. Junal Dedikasi Volume I No. 2.
- Khan, T. A. 2002. *Reporting Degree of Deacetylation Values of Chitosan: The Influence of Analytical Methods*. J Pharm Pharmaceut Sci. **5**(3):205-212.
- Kusuma, E. W. 2012. *Pemanfaatan Limbah Kulit Kerang sebagai Bahan Campuran Pembuatan Paving Block*. Program Studi Teknik Lingkungan. Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan. Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jawa Timur. Surabaya.
- Kusumaningsih, Triana, A. Masykur, U. Arief. 2004. *Pembuatan Kitosan dari Kitin Cangkang Bekicot (Achatina fulica)*. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta. Biofarmasi 2 (2): 64-68.
- Mahae, N., C. Chalal, dan P. Muhamud. 2011. *Antioxidant and antimicrobial properties of chitosan-sugar complex*. International Food Research Journal 18(4): 1543-1551.
- Millot, C., J. Mcbrien, S. Allen, and E. Guibal. 1998. *Influence of physicochemical and structural characteristic of chitosan flakes on molybdate sorption*. Journal Applied Polymer Science. Vol 68. 571-580.
- Ming, D.Y., Yi X.C., Wei W.J., Mian, W., Song W.Y., and Hong R.Y. 2001. *Determination of Degree of Substitution for N-acylated Chitosan using IR Spectra*. Science in China, 44(2): 216 – 224.
- No, H.K., S.P. Meyers, & , K.S. Lee.1989. *Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste*. J Agric Food Chem 37: 575-579.
- Rajalakshmi, A., N. Krithiga dan A. Jayachitra. 2013. *Antioxidant Activity of the Chitosan Extracted from Shrimp Exoskeleton*. Middle-East Journal of Scientific Research 16 (10): 1446-1451.
- Sarbi, S. 2008. *Pengembangan Sistem Pengelolaan Sampah di Kota Parpare*. Jurnal Bumi Lestari. Vol 8 (1), 28-40.
- Silverstein et al., 1986. *Penyidikan Spektrometrik Senyawa Organik*. Erlangga. Jakarta.(476 Halaman)
- Subani, W, M. Sahabi, W. Kastoro, A. Aznan, & N. Siti, 1989. *Potensi dan penyebaran moluska dan teripang*. Direktorat Jenderal Perikanan. 2(1): 10.
- Subhapradha, Namasivayam et al. 2013. *Anticoagulant and antioxidant activity of sulfated chitosan from the shell of donacid clam Donax scortum (Linnaeus, 1758)*. www.ijnpd.com. (16 Agustus 2014).
- Sugita, P. 2009. *Kitosan : Sumber Biomaterial Masa Depan*. IPB Press: Bogor.
- Sulistiyoningrum, R. S. 2013. *Aktivitas Antibakteri Kitosan dari Cangkang*



- Kerang Simping pada Kondisi Lingkungan yang Berbeda: Kajian Pemanfaatan Limbah Kerang Simping (Amusium sp).* [Skripsi]. Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Susilowati, I., I. Widowati, T.W. Agustini, and A.B. Raharjo. 2008. *Empowering A-B-G-C to Promote Simping Clam (Amusium pleuronectes) as one of the way out line to raise the welfare of Fishers and Regional Income in Northern-Coast of Central Java-INDONESIA: with Special Referente to Brebes Regency as the Pilot Project.* Research Institutes. Diponegoro University (UNDIP). Semarang.
- Tanasale, M. F. J. D. P., A. Killay, dan M. S. Laratmase. 2012. *Kitosan dari Limbah Kulit Kepiting Rajungan (Portunus sanguinolentus L.) sebagai Adsorben Zat Warna Biru Metilena.* Universitas Pattimura, Ambon. *Jurnal Natur Indonesia* 14 (2), Hal: 165-171.
- Wiyarsi, A. dan E. Priyambodo. 2009. *Pengaruh Konsentrasi Kitosan dari Cangkang Udang terhadap Efisiensi Penyerapan Logam Berat.* Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA UNY. Yogyakarta.
- Xie, W., P. Xu, W. Wang, dan Q. Liu. 2002. *Preparation and antibacterial activity of a water-soluble chitosan derivative.* *Carbohydrate Polymer* 50: 35-40.