

**UJI TOKSISITAS KITOSAN CANGKANG KEPITING RAJUNGAN (*Portunus pelagicus*)
DAN KEPITING BAKAU (*Scylla serrata*) DENGAN METODE *BRINE SHIRMP*
*LETHALITY TEST (BSLT)***

Qisti Pristiwani*

Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara
Al-Washliyah Medan, Indonesia
pristiwa.29@gmail.com

Ridwanto

Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara
Al-Washliyah Medan, Indonesia
rid.fillah66@gmail.com

ABSTRACT

Rajungan and bakau are crab species that are very commonly found in Indonesia and are used as Indonesian fishery export commodities. However, unfortunately market demand only uses the meat, leaving a lot of shell waste for the environment. In fact, crab shells contain chemicals, including 30-40% protein, minerals (CaCO₃), and 20-30% chitin. Chitin can be processed into chitosan which has many benefits for life. The purpose of this study was to determine the presence of chitosan in crab shells and to test its toxicity using the BSLT method. Chitosan is obtained from the isolation of chitin through the stages of deproteination, demineralization, depigmentation, and deacetylation of chitin into chitosan. The results of this study indicate that chitosan has not been isolated properly because the degree of deacetylation is only 48,7 % in crabs and 73,4% in mud crabs from a minimum standard of 75%. The degree of deacetylation was obtained from the results of the FT-IR test. Furthermore, the level of toxicity was seen with the results of the LC50 using the BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) test. The results of probit analysis showed that the LC50 value was 3149.198 g/ml in rajungan crab chitosan and 3718.775 g/ml in bakau crab. So it can be concluded that chitosan from rajungan and bakau crab shells is not toxic and safe to use in life.

Keywords : Crab, chitosan, toxicity, BSLT, LC50.

ABSTRAK

Rajungan dan bakau adalah jenis kepiting yang sangat banyak ditemukan di Indonesia dan dijadikan sebagai komoditi ekspor perikanan Indonesia. Namun, sayangnya permintaan pasar hanya memanfaatkan dagingnya saja sehingga menyisakan limbah cangkang yang banyak bagi lingkungan. Padahal, cangkang kepiting memiliki kandungan kimia, diantaranya protein 30-40%, mineral (CaCO₃), dan kitin 20-30%. Kitin dapat diolah menjadi kitosan yang memiliki banyak manfaat bagi kehidupan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya kitosan dalam cangkang kepiting dan menguji toksisitasnya dengan

menggunakan metode BSLT. Kitosan didapat dari proses isolasi kitin melalui tahapan deproteinasi, demineralisasi, depigmentasi, deasetilasi kitin menjadi kitosan. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa kitosan belum berhasil terisolasi dengan baik karena derajat deasetilasinya hanya 48,7% pada rajungan dan 73,4% pada kepiting bakau dari standar minimal adalah 75%. Derajat deasetilasi didapat dari hasil uji FT-IR. Selanjutnya, tingkat toksisitasnya dilihat dengan hasil LC_{50} menggunakan uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Didapatkan hasil analisis probit menunjukkan nilai LC_{50} sebesar 3149,198 $\mu\text{g/ml}$ pada kitosan kepiting rajungan dan 3718,775 $\mu\text{g/ml}$ pada kepiting bakau. Sehingga disimpulkan kitosan dari cangkang kepiting rajungan dan kepiting bakau tidak toksik dan aman digunakan dalam kehidupan.

Kata Kunci : *Kepiting, kitosan, toksisitas, BSLT, LC_{50} .*

PENDAHULUAN

Sebagai Negara yang wilayahnya sekitar dua per tiga terdiri dari laut dengan kekayaan ikan yang melimpah, Indonesia termasuk Sumatera Utara marak dengan industry kuliner berbasis *sea food*, salah satunya kepiting. Sayangnya, kepiting banyak diekspor ke luar negeri namun hanya mengutamakan dagingnya saja. Sementara, cangkangnya dibuang menjadi limbah. Padahal, cangkang kepiting memiliki kandungan zat yang sangat banyak, diantaranya protein 30-40%, mineral 30-50% dan kitin 20-30%. Zat kitin dapat diolah kembali menjadi kitosan yang bermanfaat bagi kehidupan, seperti pengawet pada makanan, penstabil warna, antibakteri, penghantar obat dan lain-lain.

Rajungan dan Bakau adalah jenis kepiting yang paling terkenal dan banyak dieksport. Sebelum dieksport rajungan dipisahkan dari cangkangnya, sehingga cangkangnya dibuang dan menjadi limbah yang dapat mencemari lingkungan karena pemanfaatannya belum maksimal. Cangkang kepiting rajungan ini merupakan bagian tubuh yang bersifat sebagai pelindung karena bertekstur keras yang tersusun atas zat tanduk atau kitin. Mengingat jumlahnya yang banyak dan hanya menjadi limbah bagi lingkungan saja, maka perlu dimanfaatkan untuk keperluan lain yang lebih bermanfaat (Rahayu *et al*, 2020).

Aplikasi kitosan dalam bidang farmasi telah dilakukan oleh sejumlah penelitian seperti penghantaran obat (*drug delivery*), penghantaran protein/peptida/vaksin/gen/oligonukleotida, *wound dressing*, protein binding, *bioimaging*, zat antimikroba pada makanan, antibakteri pada bahan kemasan makanan dan tekstil, implan, komponen lensa kontak dan enkapsulasi sel (Shariatinia, 2018).

Pemanfaatan limbah cangkang rajungan dapat mengurangi potensi cemaran lingkungan dan dapat membuat nilai tambah bagi limbah cangkang rajungan tersebut. Limbah cangkang rajungan masih mengandung senyawa kimia cukup banyak, diantaranya protein 30-40%, mineral (CaCO_3) 30-50%, dan kitin 20-30% (Amalia 2018).

Cangkang rajungan mengandung kitin yang berpotensi untuk dikembangkan, dimana kitin tersebut dapat diolah kembali menjadi kitosan.

Peneliti memilih judul ini karena besarnya manfaat kitosan dalam kehidupan dan tersedianya bahan alam yang melimpah tersebut (cangkang kepiting) yang dapat diolah menjadi kitosan. Disamping itu, karena kitosan ini digunakann sebagian besar pada bahan makanan untuk pengawetan, maka perlu mengetahui keamanan dari adanya kitosan ini.

Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul **“Uji Toksisitas Kitosan Cangkang Kepiting Rajungan (*Portunus pelagicus*) dan Kepiting Bakau (*Scylla serrata*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)”**.

METODE PENELITIAN

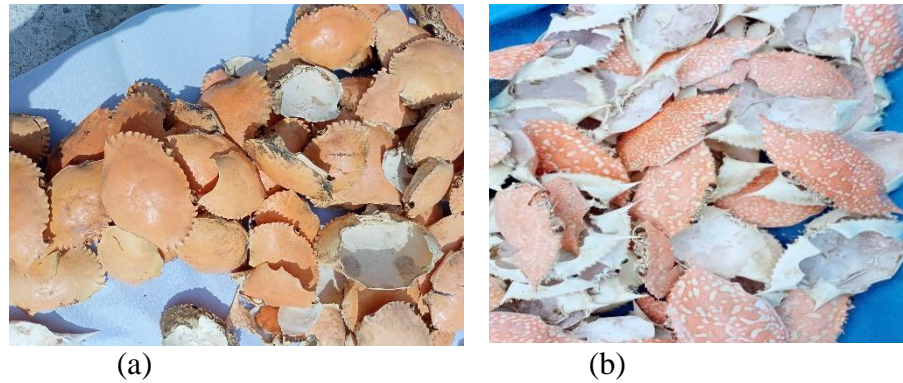
Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental. Dengan tahapan pelaksanaan penelitian meliputi pengumpulan sampel, pengolahan sampel, pembuatan kitosan, analisis gugus fungsi dengan menggunakan Spektrofotometer FTIR, karakterisasi kitosan, uji toksisitas kitosan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) terhadap larva udang *Artemia salina Leach*.

Variabel dalam penelitian ini terdapat variable bebas dan variable terikat. Variabel bebas dari penelitian ini adalah konsentrasi kitosan dari cangkang kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) dan cangkang kepiting bakau (*Scylla serrate*). Variable terikat dari penelitian ini adalah uji toksisitas kitosan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persiapan Sampel

Cangkang kepiting Rajungan dan kepiting Bakau yang diperoleh masing-masing sebanyak 10 kg dan 5 kg dicuci bersih dan dikeringkan dibawah sinar matahari sampai benar-benar kering dan tidak terdapat kandungan air pada limbah cangkang kepiting Rajungan (*Portunus pelagicus*) dan kepiting Bakau (*Scylla Serrata*). Setelah kering, diperoleh berat masing-masing cangkang adalah 2 kg dan 360 g. Kedua cangkang kemudian ditumbuk dan diblender sampai berbentuk serbuk halus untuk memudahkan saat proses isolasi kitin menjadi kitosan. Sampel yang diperoleh kemudian ditimbang masing-masing 200 g serbuk cangkang kepiting untuk dilakukan uji selanjutnya.



Gambar 4.1 (a) penjemuran cangkang kepiting bakau (b) penjemuran cangkang kepiting rajungan

Proses Isolasi Kitin Menjadi Kitosan

Proses pemurnian kitin yang berasal dari cangkang kepiting rajungan dan kepiting bakau ada 4 tahap, yaitu : deproteinasi, demineralisasi, depigmentasi, dan deasetilasi kitin menjadi kitosan.

Tabel 4.1.

Perbandingan Tahapan Randemen Isolasi Kitosan antara Kepiting Rajungan dan Kepiting Bakau Hasil Uji Peneliti

Tahapan	Serbuk Cangkang kepiting bakau (gr)	Serbuk Cangkang kepiting Rajungan (gr)	Randemen %	
			K. Bakau	K. Rajungan
Awal	200	200		
Deproteinasi	156,44	151,33	78,22%	75,66%
Demineralisasi	17,58	25,15	11,23%	16,62%
Depigmentasi	15,11	17,47	85,95%	69,46%
Deasetilasi kitin menjadi kitosan	7,52	9,49	49,76%	54,32%

Dari tabel diatas dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan randemen setiap tahapan antara jenis kepiting bakau dan kepiting rajungan dimulai dari hasil deproteinasi, demineralisasi, dan juga pada tahap deasetilasi menjadi kitosan.

Proses Deproteinasi

Proses deproteinasi adalah proses yang dilakukan untuk menghilangkan protein yang terdapat dalam serbuk cangkang kedua kepiting. Pada tahap deproteinasi, protein

yang terkandung dalam cangkang kepiting rajungan dan kepiting bakau dalam keadaan basa sehingga protein yang terikat secara kovalen pada gugus fungsi kitin akan terpisah. Penggunaan NaOH dengan konsentrasi dan suhu yang tinggi semakin efektif dalam menghilangkan protein dan menyebabkan terjadinya proses deasetilasi (Karmas, 1982). Hasil dari deproteinasi yang didapatkan pada masing-masing sampel kepiting rajungan dan kepiting bakau adalah 151,33 gram dan 156,44 gram. Dan diperoleh randemen masing-masing kepiting adalah 75,66% dan 78,22%.

Proses Demineralisasi

Proses demineralisasi adalah proses yang dilakukan untuk menghilangkan mineral yang terdapat dalam cangkang kepiting rajungan dan kepiting bakau. Tujuan dilakukannya proses demineralisasi adalah untuk menghilangkan garam-garam anorganik atau kandungan mineral yang terdapat dalam cangkang. Kandungan mineral utamanya adalah CaCO_3 dan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ dalam jumlah sedikit, mineral yang terkandung ini lebih mudah dipisahkan dibandingkan dengan protein karena hanya terikat secara fisik (Fawwaz et al., 2016). Kalsium karbonat dan kalsium fosfat bereaksi dengan asam klorida membentuk kalsium klorida, asam karbonat dan asam fosfat yang merupakan senyawa larut dalam air, sedangkan residu yang tidak larut merupakan senyawa kitin. Reaksi pelarutan mineral yang terjadi dituliskan pada persamaan reaksi (1) dan (2).



CO_2 yang dihasilkan terlihat dari buih yang terbentuk pada proses demineralisasi. Sehingga HCl harus dituangkan secara bertahap untuk menghindari meluapnya CO_2 . Hasil yang diperoleh dari demineralisasi ini pada masing-masing sampel kepiting rajungan dan kepiting bakau adalah 25,15 gram dan 17,58 gram dari berat sampel hasil deproteinasi adalah 156,44 gram dan 151,33 gram. Maka, randemen yang diperoleh adalah sebesar 16,62% dan 11,23%.

Proses Depigmentasi

Proses depigmentasi merupakan tahap penghilangan pigmen (zat warna) pada sampel. Penghilang pigmen ini bertujuan untuk memberikan penampakan yang menarik pada produk kitosan yang dihasilkan. Terlepasnya pigmen warna yang terkandung dalam sampel ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna coklat

keputihan pada filtrat hasil depigmentasi. Penggunaan NaOCl berguna untuk proses depigmentasi. Menggunakan aseton saja tidak dapat menghasilkan warna yang baik, untuk itu diperlukan larutan pemutih lainnya seperti NaOCl agar dapat menghasilkan warna kitosan yang sesuai.

Hasil yang didapatkan dari proses depigmentasi ini pada masing-masing sampel adalah 17,47 gram dan 15,11 gram. Serbuk yang diperoleh dari hasil depigmentasi berupa padatan kering yaitu serbuk kitin halus.

Proses Deasetilasi

Deasetilasi merupakan proses perubahan gugus asetamida (NHCOCH₃) pada kitin menjadi gugus amina (NH₂) pada kitosan dengan penambahan NaOH pekat atau larutan basa kuat berkonsentrasi tinggi (Srijanto, dkk., 2006). Derajat deasetilasi dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti konsentrasi basa, temperatur, waktu reaksi, perbandingan antara kitin dengan larutan alkali, serta ukuran partikel. Transformasi kitin menjadi kitosan melalui proses deasetilasi dengan menggunakan NaOH 60% perbandingan 1:20 (b/v). Kitin mempunyai struktur kristalin yang panjang dengan ikatan hidrogen yang kuat antara atom nitrogen dan gugus karboksilat pada rantai bersebelahan (Avelizapa *et al.*, 2004)

Sintesis kitosan melalui proses deasetilasi menggunakan metode Knorr (Khan *et al.*, 2002). Hasil yang diperoleh dari proses depigmentasi (kitin) kitosan masing-masing sebanyak 9,49 gram dan 7,52 gram. Jadi, pada penelitian ini di dapat randemen transformasi kitin yang menjadi kitosan sebesar 54,32% dan 49,76%.

$$\text{Randemen} = \frac{\text{Berat kitosan}}{\text{berat kitin}} \times 100\%$$

$$\text{Randemen Rajungan} = \frac{9,49}{17,47} \text{ g} \times 100\% = 54,32\%$$

$$\text{Randemen Bakau} = \frac{7,52}{15,11} \text{ g} \times 100\% = 49,76\%$$

Pengujian Secara FTIR

Perbandingan karakteristik pada FTIR

Tabel 4.2 Karakteristik Kitin Dari Kulit Udang

Gugus Fungsi	Bilangan gelombang (cm-1) kitin hasil penelitian
OH	3474,73
N-H ulur	3265,49
C-H ulur	2883,58

C=O ulur	1660,71
N-H bengkokan	1554,63
CH ₃	1431,18
C-O-C	1072,42
N-H kibasan	707,88

Sumber : (Agustina *et al.*, 2015)

Tabel 4.3

Karakteristik Kitosan Hasil Penelitian Dari Limbah Cangkang Kepiting Rajungan

Gugus fungsi	Bilangan gelombang (cm-1) kitin hasil penelitian
	Kepiting rajungan
C-H	2873.94
C≡C, C≡N	2144.84
C=C aromatik	1672.28
C=C aromatik	1641.42
C=N alifatik	1546.91
C-H (bending)	1419,61
C-H (bending)	1379.10
C-N Ulur	1153,43

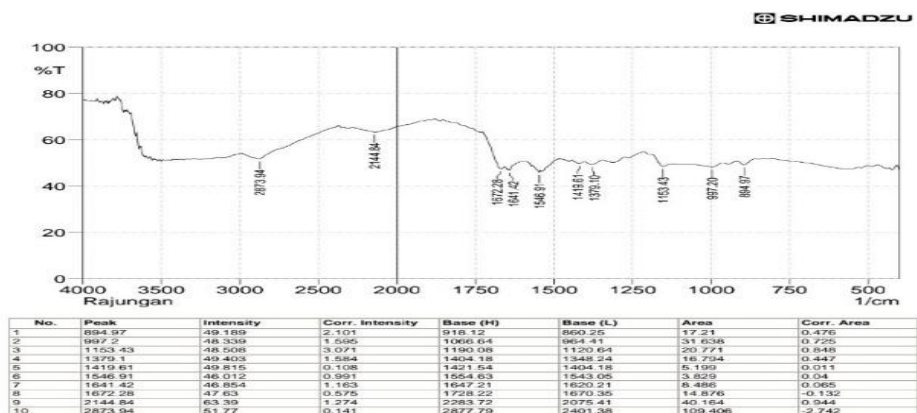
Tabel 4.4

Karakteristik Kitosan Hasil Penelitian Dari Limbah Cangkang Kepiting Bakau

Gugus fungsi	Bilangan gelombang (cm-1) kitin hasil penelitian
--------------	---

	Kepinging bakau
O-H,N-H	3099.61
C-H	2873.94
C≡C, C≡N	2167.99
C=C aromatik	1649.14
C=N aflatik	1546.91
C-H bending	1423.47
C-H bending	1381.03
C-H bending	1313.52
CN ulur	1151.50

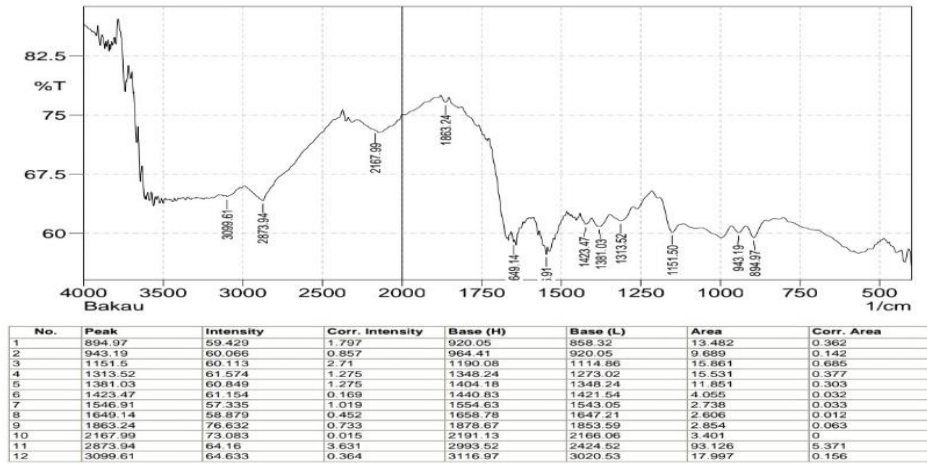
Kitosan yang diperoleh selanjutnya diidentifikasi dengan spektroskopi inframerah. Identifikasi ini dilakukan untuk mengetahui gugus fungsi kitosan.



Comment:
Rajungan

Date/Time: 2/17/2022 2:49:43 PM
No. of Scans:
Resolution:
Apodization:

Gambar 4.2 Spektrum FTIR Kitosan Dari Canggang Kepiting Rajungan



Comment:
Bakau

Date/Time: 2/17/2022 2:35:57 PM
No. of Scans:
Resolution:
Apodization:

Gambar 4.3 Spektrum FTIR Kitosan Dari Cangkang Kepiting Bakau

Prinsip dasar dari analisis spektrofotometri IR adalah penyerapan radiasi elektromagnetik oleh gugus-gugus fungsi tertentu, sehingga dari spektrum serapan yang terbaca mampu mengetahui gugus-gugus fungsi tertentu, sehingga dari spektrum serapan yang terbaca mampu mengetahui gugus fungsi apa saja yang terdapat pada suatu senyawa. Bila sinar inframerah dilewatkan melalui sebuah cuplikan, maka sejumlah frekuensi lainnya diteruskan atau ditransmisikan tanpa adanya penyerapan. Hubungan antara persen absorbansi dengan frekuensi maka akan dihasilkan sebuah spektrum inframerah. Spektrofotometri inframerah pada umumnya digunakan untuk menentukan gugus fungsi suatu senyawa organik dan mengetahui informasi struktur suatu senyawa dengan membandingkan daerah sidik jarinya.

Pada hasil uji kemurnian kitosan hasil isolasi cangkang kepiting rajungan menggunakan spektrofotometri inframerah menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang 2850-2970 cm^{-1} , yaitu 2873,94 cm^{-1} . Adanya ikatan C-H. Kemudian adanya serapan pada bilangan gelombang 2400-2100 cm^{-1} (renggang $\text{-C}\equiv\text{C}$, $\text{C}\equiv\text{N}$), yaitu 2144,84 cm^{-1} . Selanjutnya, adanya serapan 1675-1500 cm^{-1} (renggang $\text{C}=\text{C}$ aromatik dan alifatik, $\text{C}=\text{N}$), yaitu 1672,28 cm^{-1} , 1641,42 cm^{-1} , 1546,91 cm^{-1} . Kemudian muncul serapan pada

gelombang 1475-1300 cm^{-1} (C-H Bending) yaitu, 1419,61 cm^{-1} dan 1379.10 cm^{-1} . Lalu adanya serapan pada bilangan gelombang 1250-1000 cm^{-1} (vibrasi ulur C-N), yaitu 1153,43 cm^{-1} .

Pada hasil uji kemurnian kitosan hasil isolasi cangkang kepiting bakau menggunakan spektrofotometri inframerah menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang 3750-3000 cm^{-1} (renggang O-H dan N-H amina), yaitu 3099,61 cm^{-1} . Adanya serapan gelombang pada bilangan gelombang 2850-2970 cm^{-1} , yaitu 2873,94 cm^{-1} . Adanya ikatan C-H. Kemudian serapan pada bilangan gelombang 2400-2100 cm^{-1} (renggang $\text{-C}\equiv\text{C}$, $\text{C}\equiv\text{N}$), yaitu 2167,99. Adanya serapan pada bilangan gelombang 1675-1500 cm^{-1} (renggang C=C aromatik dan alifatik, C=N), yaitu 1649,14 cm^{-1} dan 1546,91 cm^{-1} . Kemudian, serapan pada bilangan gelombang 1475-1300 cm^{-1} (C-H bending), yaitu 1423,47 cm^{-1} , 1381,03 cm^{-1} , dan 1313,52 cm^{-1} . Adanya serapan pada bilangan gelombang 1250-1000 cm^{-1} (vibrasi ulur CN), yaitu 1151,50 cm^{-1} .

Karakterisasi Kitosan

Kitosan yang diperoleh dari proses isolasi secara bertahap selanjutnya dikarakterisasi dengan beberapa spesifikasi. Hal tersebut bertujuan untuk mengetahui apakah kitosan yang diperoleh telah memenuhi standar yang telah ditetapkan. Karakterisasi kitosan yang dilakukan meliputi : organoleptis (tekstur, warna, dan bau), randemen kitin menjadi kitosan, kadar air, kadar abu, tingkat kelarutan kitosan, dan derajat deasetilasi.

Tabel 4.5

Perbandingan Hasil Karakterisasi Kitosan Hasil Penelitian Isolasi Dari Limbah Cangkang Kepiting Rajungan Dan Cangkang Kepiting Bakau

Spesifikasi	Hasil isolasi Kepiting		Standar International (SNI)*
	Rajungan	Bakau	
Organoleptis : -warna -tekstur -bau	Coklat-putih/krim serbuk tidak berbau	Coklat muda serbuk tidak berbau	Coklat muda-putih Serpihan dan serbuk halus Tidak berbau
Randemen : -kitin -kitosan	69,46% 54,32%	85,95% 49,76%	
Kadar air	7,30 %	6,78%	$\leq 12\%$

Kadar abu	1,72 %	2,25%	≤5%
Kelarutan kitosan dalam asam asetat 2%	Larut	Larut	Larut
Derajat Deasetilasi	73,4%	48,7%	Minimal 75%

*SNI 7949:2013

Uji Organoleptis

Uji organoleptik atau uji indra merupakan cara pengujian dengan menggunakan indra manusia. Organoleptis mempunyai peranan penting dalam penerapan mutu. Dengan adanya organoleptis dalam karakterisasi kitosan, maka dapat memberikan indikasi kemunduran mutu dan kerusakan lainnya. pada bagian organoleptis ini, yang diamati adalah bagaimana warna tekstur serta bau dari kitosan yang telah diisolasi. Setelah serbuk sampel melewati proses deproteinasi, demineralisasi, deasetilasi kitin menjadi kitosan, di dapat warna dari kitosan hasil isolasi adalah coklat keputihan, hal ini memenuhi syarat SNI dimana warna yang baik untuk kitosan mulai dari coklat muda sampai putih. Sedangkan untuk tekstur kitosan hasil isolasi didapat tekstur serbuk halus, hal ini juga memenuhi syarat SNI dimana tekstur yang bagus untuk kitosan adalah serpihan sampai serbuk. Kitosan hasil isolasi juga tidak menimbulkan bau yang mengganggu indra penciuman, bahkan bisa dikatakan tidak berbau, hal tersebut juga memenuhi syarat SNI dimana kitosan yang bagus tidak menimbulkan bau.

Randemen Kitin Menjadi Kitosan

Randemen transformasi kitin menjadi kitosan ditentukan berdasarkan presentase berat kitosan yang dihasilkan terhadap berat kitin yang diperoleh (Zahiruddin *et al.*, 2008). % Rendemen transformasi kitin menjadi kitosan dapat dihitung menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{randemen} = \frac{\text{berat kitosan yang didapat}}{\text{berat kitin}} \times 100\%$$

Randemen transformasi kitin menjadi kitosan pada kepiting rajungan dan bakau masing-masing sebesar 54,32% dan 49,76%. Kitosannya memiliki tekstur serbuk, berwarna coklat keputihan dan sedikit berbau pada kitosan kepiting rajungan. Sedangkan untuk kitosan kepiting bakau berwarna coklat sedikit lebih gelap dan sedikit berbau.

Kadar Air

Kadar air merupakan salah satu parameter yang sangat penting untuk menentukan mutu kitosan. Kadar air pada kitosan dipengaruhi oleh kelembapan relatif udara di sekitar tempat penyimpanan, sebab kitosan bersifat mudah menyerap uap air dari udara disekitarnya. Gugus-gugus polimer kitosan (gugus aminaN-asetil danhidroksil) akan berikatan hidrogen dengan H₂O dari udara (Dompeipen *et al.*, 2016).

SNI Produk Perikanan nonpangan (2018) menetapkan standar mutu untuk kadar air kitosan adalah ≤ 12 %. Dari hasil penelitian ini, diperoleh kadar air kitosan dari masing-masing sampel adalah 7,3% dan 8,69%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar air kitosan hasil isolasi yang di dapat memenuhi syarat yang telah ditetapkan dan tidak melebihi batas maksimum standar mutu kitosan. Kadar air ini tidak dipengaruhi oleh konsentrasi NaOH serta suhu pada saat proses deasetilasi berlangsung. Kadar air yang terkandung di dalam kitosan dipengaruhi oleh proses pengeringan, lamanya waktu pengeringan dilakukan, jumlah sampel yang dikeringkan, dan luas permukaan tempat kitosan dikeringkan (Ihsani & Widyastuti, 2015).

Kadar Abu

Kadar abu merupakan parameter untuk mengetahui mineral yang terkandung dalam suatu bahan yang mencirikan keberhasilan proses demineralisasi yang dilakukan. Kadar abu yang rendah menunjukkan kandungan mineral yang rendah. Semakin rendah kadar abu yang dihasilkan maka mutu dan tingkat kemurnian kitosan akan semakin tinggi. Penghilangan mineral dipengaruhi oleh proses agitasi (pengadukan) selama proses, sehingga panas yang dihasilkan menjadi homogen. Proses pengadukan yang konstan akan menyebabkan panas dapat merata sehingga pelarut (HCl) dapat mengikat mineral secara sempurna. Jika pengadukan yang dilakukan tidak konstan maka panas yang dihasilkan tidak merata, sehingga reaksi pengikatan mineral oleh pelarut juga akan tidak sempurna (Hartati FK. *et al.* 2002).

Selain itu proses pencucian yang baik hingga diperoleh pH netral juga berpengaruh terhadap kadar abu. Mineral yang telah terlepas dari bahan dan berikatan dengan pelarut dapat terbuang dan larut bersama air (Angka dan Suhartono 2000). Pencucian yang kurang sempurna akan mengakibatkan mineral yang telah terlepas dapat melekat kembali pada permukaan molekul kitin.

Pada SNI Produk Perikanan Nonpangan (2018) menetapkan standar mutu untuk kadar abu kitosan adalah ≤ 5 %. Dari penelitian ini didapatkan hasil kadar abu kitosan pada kepiting rajungan dan kepiting bakau masing-masing adalah 1,72% dan 2,25%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar abu kitosan hasil isolasi yang di dapat

memenuhi syarat yang telah ditetapkan dan tidak melebihi batas maksimum standar mutu kitosan.

Kelarutan Kitosan

Kelarutan kitosan merupakan salah satu parameter yang dapat dijadikan sebagai standar penilaian mutu kitosan. Semakin tinggi kelarutan kitosan berarti mutu kitosan yang dihasilkan semakin baik. Hasil uji kelarutan pada kitosan ini menunjukkan kitosan larut dengan asam asetat 2%. Kitosan dapat larut dalam asam lemah tersebut kemungkinan disebabkan adanya ikatan antara gugus karboksil dengan gugus amina kitosan (wahyuni, 2013). Suhu dan perendaman berpengaruh terhadap kelarutan kitosan (Dompeipen, 2016).

Derajat Deasetilasi

Derajat deasetilasi menunjukkan persentase gugus asetil yang dapat dihilangkan dari kitin sehingga dihasilkan kitosan. Derajat deasetilasi yang tinggi menunjukkan bahwa gugus asetil yang terkandung dalam kitosan adalah rendah. Makin berkurangnya gugus asetil pada kitosan maka interaksi antar ion dan ikatan hidrogen dari kitosan akan semakin kuat. Pada SNI Produk Perikanan Nonpangan (2018) menetapkan standar mutu untuk derajat deasetilasi kitosan minimal adalah 75%. Hasil derajat deasetilasi pada penelitian ini didapatkan hasil sebesar 48,7% pada kepiting rajungan dan 73,4% pada kepiting bakau. Hasil tersebut menunjukkan bahwa derajat deasetilasi kitosan hasil isolasi yang didapat tidak memenuhi syarat yang telah ditetapkan. Cara menghitungnya menggunakan rumus:

$$\%DD = 1 - \left| \frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times \frac{1}{1,33} \right| \times 100\%$$

Dimana :

A₁₆₅₅ = absorbansi pada panjang gelombang 1655. Pada panjang gelombang ini menunjukkan kandungan ikatan amina untuk perhitungan kandungan gugus n-asetil

A₃₄₅₀ = Absorbansi pada panjang gelombang 3450. Pada panjang gelombang ini menunjukkan ikatan hidroksil sebagai faktor koreksi

Faktor 1,33 = nilai dari A₁₆₅₅/A₃₄₅₀ untuk kitosan yang terdeasetilasi sempurna

Dari hasil perhitungan diatas didapatkan besarnya nilai derajat deasetilasi untuk kitosan cangkang kepiting rajungan dan bakau masing-masing sebanyak 48,7% dan 59,99%. Kadar minimal derajat deasetilasi, supaya dikategorikan kitosan secara umum ialah diatas 50% dan idealnya 80%-100% (Trisnawati *et al.*, 2013).

Hasil Uji Toksisitas Kitosan Cangkang Kepiting Rajungan (*Portunus pelagicus*) dan Kepiting Bakau (*Scylla serrata*) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Uji toksisitas ini dilakukan dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) menggunakan *Artemia salina Leach* sebagai hewan uji. Fase *Artemia salina Leach* yang digunakan dalam penelitian ini adalah fase nauplius karena pada saat itu *Artemia salina Leach* berada pada fase yang paling aktif membelah secara mitosis yang identik dengan sel kanker yang juga membelah secara mitosis. Hal ini menyebabkan uji BSLT ini sering digunakan sebagai penelitian pendahuluan dari aktivitas antikanker. Metode BSLT ini merupakan metode penapisan farmakologi awal yang mudah dan relatif tidak mahal serta tidak membutuhkan spesialisasi tertentu dalam pengerjaannya. Juga merupakan metode yang telah teruji hasilnya dengan tingkat kepercayaan 95% untuk mengamati toksisitas suatu senyawa di dalam ekstrak kasar tanaman (Lisdawati *et al*, 2006).

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, kematian larva berbeda-beda pada masing-masing konsentrasi. Untuk hasil uji toksisitas kitosan cangkang kepiting rajungan dan bakau dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 4.6

Hasil Uji Toksisitas Kitosan Cangkang Kepiting Rajungan (*Portunus Pelagicus*)

No	Konsentrasi µg/ml	Perlakuan I		Perkakuan II		Perlakuan III		Rata-rata % mortalitas
		larva mati	%mortalitas	larva mati	%mortalitas	larva mati	%mortalitas	
1	blanko	0	0	0	0	0	0	0
2	100	1	10	0	0	0	0	3,33
3	250	0	0	1	10	1	10	6,66
4	500	2	20	1	10	1	10	13,33
5	750	3	30	2	20	2	20	23,33
6	1000	3	30	3	30	2	20	26,66

Tabel 4.7 Hasil Uji Toksisitas Kitosan Cangkang Kepiting Bakau (*Scylla Serrata*)

No	Konsentrasi µg/ml	Perlakuan I		Perkakuan II		Perlakuan III		Rata-rata % mortalitas
		larva mati	%mortalitas	larva mati	%mortalitas	larva mati	%mortalitas	

1	blanko	0	0	0	0	0	0	0
2	100	0	0	1	10	0	0	3,33
3	250	1	10	0	0	1	10	6.66
4	500	2	20	1	10	2	20	16.66
5	750	2	20	1	10	3	30	20
6	1000	3	30	3	30	1	10	23,33

Berdasarkan data tersebut jumlah larva masing-masing perlakuan adalah 10 ekor dengan tiga kali perlakuan, sehingga totalnya 30 ekor. Tabel 4.6 Dan tabel 4.7 Dapat diketahui persen mortalitas dari konsentrasi yang rendah 100 µg/ml hingga konsentrasi yang tinggi yakni 1000 µg/ml mempunyai presentasi yaitu sebesar 3-30%. Sedangkan pada blanko tidak memberikan mortalitas terhadap larva. Hal ini sesuai dengan teori, bahwa semakin tinggi nilai konsentrasi, maka semakin banyak jumlah larva yang mati. Selain itu dari presentasi kematian larva tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi, akan menghasilkan jumlah kematian larva yang semakin tinggi pula (Sitepu dan Rini, 2019).

Data yang diperoleh dari tabel diatas dapat dianalisis nilai probit untuk mendapatkan nilai LC₅₀ (Lethal concentration 50) dan menggunakan microsoft excel untuk menunjukkan grafik yang dihasilkan. Menentukan LC₅₀ digunakan analisis persamaan regresi linier antara probit sebagai sumbu Y terhadap log konsentrasi sebagai sumbu X (Panggabean *et al*, 2020). Sehingga didapatkan grafik persamaan lurus pada kitosan rajungan, $y = 1,2922x + 0,4795$. Sedangkan kurva yang didapatkan dengan microsoft excel menunjukkan koefisien korelasi yang didapat yakni $R^2 = 0,9806$. Nilai LC₅₀ dari kitosan cangkang kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) terhadap *Artemia salina* Leach dapat ditentukan dengan memasukkan nilai $y=5$ ke dalam persamaan garis lurus dari kurva yang terbentuk, sehingga diperoleh nilai LC₅₀ yang merupakan nilai konsentrasi yang dapat menyebabkan 50% kematian. Hasil perhitungan pada penelitian ini diperoleh nilai LC₅₀ lebih dari 1000 µg/ml, yaitu 3149,198 µg/ml.

Sedangkan, grafik persamaan lurus pada kitosan bakau yaitu, $y = 1,1963x + 0,7183$ dan kurva yang didapatkan dengan microsoft excel menunjukkan koefisien korelasi yang didapat yakni $R^2 = 0,9815$. Nilai LC₅₀ dari kitosan cangkang kepiting bakau (*Scylla serrata*) terhadap *Artemia salina* Leach dapat ditentukan dengan memasukkan nilai $y=5$ ke dalam persamaan garis lurus dari kurva yang terbentuk, sehingga diperoleh nilai LC₅₀, yaitu 3718,775 µg/ml.

Berdasarkan hasil LC₅₀ yang diperoleh, menunjukkan bahwa kitosan dari limbah cangkang kepiting rajungan dan kepiting bakau tidak bersifat toksik. Sebab, penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Mayer (1982), Anderson, dkk., (1991) yang

mengatakan bahwa suatu senyawa dikatakan pada uji BSLT jika memiliki nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$. Sementara hasil yang didapat melebihi $1000 \mu\text{g/ml}$.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) dan kepiting bakau (*Scylla Serrata*) mengandung kitosan dilihat dari uji FTIR dan masing-masing memiliki derajat deasetilasi sebesar 48,7% dan 73,4%
2. Kitosan dari cangkang kepiting rajungan dan kepiting bakau bersifat non-toksik dibuktikan dengan perhitungan LC_{50} sebesar $3149,198 \mu\text{g/ml}$ untuk kitosan rajungan dan $3718,775 \mu\text{g/ml}$ untuk kitosan bakau. Berdasarkan penelitian meyer, nilai LC_{50} yang melebihi $>1000 \mu\text{g/ml}$ dinyatakan tidak toksik.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui penggunaan kitosan dalam kehidupan sehari-hari karena kitosan tidak bersifat toksik sehingga aman digunakan oleh masyarakat.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistik. 2018. Kelautan dan Perikanan dalam Angka Tahun 2016-17. *Pusat Data, Statistik dan Informasi, Kementerian Kelautan dan Perikanan*, Jakarta.
- Djaenudin, dkk. 2019. Ekstraksi Kitosan Dari Cangkang Rajungan Pada Lama Dan Pengulangan Perendaman Yang Berbeda. *Jurnal Teknologi Perikanan dan Kelautan Vol. 10 No. 1. Hal : 49-59*
- Dompeipen EJ, Kaimudin M, Dewa RP. 2016. Isolasi Kitin dan Kitosan dari Kulit Udang. *Majalah BIAM. 12(1): 32-38.*
- Hardani, Prisma Trida dkk. 2021. *Review Artikel: Isolasi Kitin Dan Kitosan Dari Berbagai Sumber Bahan Alam. SNHRP-III 2021*
- Hasani, Akhmad. 2018. Patogenesis Dan Gejala Klinis Rajungan Dan Udang. *Akademi Analisis Kesehatan Borneo Lestari. Banjarbaru*
- Huda, Hakim Miftakhul dkk. 2021. Status Dan Permasalahan Pemanfaatan Sumber Daya Rajungan Di Indonesia. *J. Kebijakan Sosek KP Vol. 11 No. 2 hal: 119 – 126*
- Husni, Patihul. *Dkk. 2020. Potensi Kitosan Bersumber dari Limbah Cangkang Rajungan (Portunus pelagicus) dalam Bidang Farmasi. Majalah Farmasetika, 5 (1) hal : 33. <https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v5i1.23804>*
- Ifa, La dkk. 2018. Pemanfaatan Cangkang Kerang Dan Cangkang Kepiting Sebagai Adsorben Logam Cu, Pb Dan Zn Pada Limbah Industri Pertambangan Emas. *Journal Of Chemical Process Engineering Vol.03, No.01*

- Kusuma, Kwirinus Rio dkk. 2021. Keanekaragaman Jenis Kepiting Bakau (*Scylla Sp.*) Di Kuala Kota Singkawang Kalimantan Barat. *Jurnal Laut Khatulistiwa*, Vol. 4 No. 1 Hal.1-9.
- Mursida dkk. 2018. Efektifitas Larutan Alkali Pada Proses Deasetilasi Dari Berbagai Bahan Baku Kitosan Jphpi. Volume 21 Nomor 2
- Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan. 2015. Penangkapan Lobster *Panulirus spp.*, Kepiting Bakau *Scylla spp.*, dan Rajungan *Portunus pelagicus spp.* Jakarta (ID): *PERMEN – KP*. 8 hlm.
- Rahayu, L., dan Purnavita, S. 2007. Optimasi pembuatan kitosan dari kitin limbah cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) untuk adsorben ion logam merkuri. *Reaktor*, 11, 45-49.
- Rahayu dkk. 2020. Isoterm Adsorpsi Ion Cr(III) Oleh Kitosan Hasil Isolasi Limbah Kepiting Rajungan dan Kitosan Komersil. *Indo. J. Chem. Res.*, 8(1), 28-34
- Rochima E. 2007. Karakterisasi Kitin dan Kitosan Asal Limbah Rajungan Cirebon Jawa Barat. *Buletin Teknologi Hasil Perairan*. X (1): 9 – 22.
- Sianturi, A., Basyuni, M. dan Apandy, Z., 2016. Tingkat Kematangan Gonad Kepiting Bakau (*Scylla serrata*) di Kawasan Hutan Mangrove Sicanang Kecamatan Medan Belawan Sumatera Utara. *Aquacoastmarine*, 12(2):38-47.
- Supriningrum, R., Sapri, S., & Pranamala, V. A. (2017). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Akar Kb (*Coptosapelta tomentosa* Valetton Ex K.Heyne) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (Bslt). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 2(2), 161. <https://doi.org/10.51352/jim.V2i2.61>
- Susanti, Lasri dkk. 2019. Crabs Identification in the Mangrove Ecosystem, Kampung Madong, Kampung Bugis Village, Tanjungpinang City, Riau Islands. Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau.
- Suwandi, Ruddy dkk. 2019. Perbedaan Waktu Penanganan Terhadap Bobot, Komposisi Proksimat, Dan Asam Amino Rajungan Kukus. *JPHPI*, Volume 22 Nomor 1.
- Tanasale, M. F., Killay, A., and Laratmase, M. S. 2012. Kitosan dari Limbah Kulit Kepiting Rajungan (*Portunus sanguinolentus* L.) sebagai Adsorben Zat Warna Biru Metilena. *Jurnal Natur Indonesia*, 14.
- Tiurlan, Ester dkk. 2019. Aspek Reproduksi Kepiting Bakau (*Scylla Sp.*) Di Perairan Kendal, Jawa Tengah. *Journal of Tropical Marine Science* Vol.2(1):29-36
- Wahyuni, Sri. Karakteristik Kitosan dari Kulit Kepiting Bakau (*Scylla serrata*), Kepiting Rajungan (*Portunus pelagicus*), dan Udang Windu (*Penaeus monodon*). *Jurnal Aqua Hayati*: Volume 9(2):191-200