

**OPTIMASI KONDISI ADSORPSI KOLESTEROL MENGGUNAKAN
KARBOKSIMETIL KITOSAN**

**OPTIMIZING CONDITIONS TO CHOLESTEROL ADSORBED WITH
CARBOXYMETHYL CHITOSAN**

Mardiyah Kurniasih^{1*}, Dwi Kartika¹, Riyanti²

¹Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Indonesia

²Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto,
Indonesia

*email: m_kurniasih@yahoo.com

Received 14 March 2016; Accepted 14 April 2016; Available online 16 May 2016

ABSTRAK

Telah dilakukan optimasi kondisi adsorpsi kolesterol menggunakan karboksimetil kitosan. Optimalisasi dilakukan dengan memvariasi waktu kontak, berat adsorben dan suhu sistem. Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan *full factorial*. Kitosan dan karboksimetil kitosan hasil sintesis dikarakterisasi menggunakan FTIR, dan ditentukan kadar air, kadar abu, kelarutan, porositas serta efek *swelling*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada suhu sistem 40 °C karboksimetil kitosan mampu mengadsorpsi kolesterol secara optimal pada kondisi perbandingan adsorben dengan kolesterol (1:200) selama waktu kontak 90 menit. Sedangkan pada suhu sistem 55 °C karboksimetil kitosan mampu mengadsorpsi kolesterol secara optimal pada kondisi perbandingan adsorben dengan kolesterol (1:300) selama waktu kontak 30 menit. Kitosan dan karboksimetil kitosan hasil sintesis memiliki kadar air sebesar 7,4 dan 10,2%, kadar abu sebesar 0,14 dan 2,29%, kelarutan dalam aquades sebesar $1,10^{-5}$ dan $1,98.10^{-3}\%$, kelarutan dalam asam asetat sebesar 0,02 dan 0,04%, porositas sebesar 88,3 dan 88,8% serta *swelling* sebesar 163,13 dan 182,98%.

Kata kunci: adsorpsi, karakterisasi, karboksimetil kitosan, kolesterol.

ABSTRACT

A research on optimizing conditions to cholesterol adsorbed have been performed. Optimization was performed by varying: contact time, adsorbent weight and temperature of the system's. A full factorial experimental design was used in this study. Characterization performed on the synthesized chitosan and carboxymethyl chitosan including FTIR, water content, ash content, solubility, porosity, and swelling effect. The results showed that carboxymethyl chitosan able to adsorb cholesterol under conditions optimal adsorbent with cholesterol ratio (1:200) with a contact time of 90 minutes at temperature of 40 °C. Meanwhile, at a temperature of 55 °C carboxymethyl chitosan capable of adsorb cholesterol under conditions optimal adsorbent with cholesterol ratio (1:300) with a contact time of 30 minutes. Chitosan and carboxymethyl chitosan synthesized has a water content of 7.4 and 10.2%, ash content of 0.14 and 2.29%, solubility in distilled water at 1.10^{-5} and $1.98.10^{-3}\%$, solubility in acetic acid 0.02 and 0.04%, porosity at 88.3% and 88.8%, and swelling at 163.13 and 182.98%.

Keywords: adsorption, carboxymethyl chitosan, characterization, cholesterol.

PENDAHULUAN

Struktur kolesterol mengandung 27 karbon, banyak ditemukan sebagai komponen dalam membran sel. Kolesterol merupakan *precursor* bagi pembentukan asam empedu, vitamin D dan beberapa hormon steroid (Osman & Chin, 2006). Kelebihan kolesterol dalam darah akan mengakibatkan penyakit stroke dan jantung. Penyakit jantung menempati posisi kelima terbesar penyebab kematian di Indonesia (Sanif, 2008). Salah satu upaya untuk menurunkan kadar kolesterol adalah dengan menggunakan kitosan. Kitosan mampu mengabsorpsi lemak hingga 4-5 kali beratnya (Rismana, 2008). 5 g kitosan dalam 50 mL lemak kambing dapat menyerap kolesterol sebanyak 30,93% (Hargono & Sumandri, 2008). Konsumsi kitosan tiap hari mampu menurunkan kadar kolesterol tanpa mempengaruhi kadar vitamin A, α -karoten, β -karoten, vitamin E, 25-hidroksivitamin D dan parameter penting lainnya (Tapola, Lyyra, Kolehmainen, Sarkkinen & Schauss, 2008).

Kitosan dapat disintesis dari kulit udang dan dari cangkang binatang invertebrata lainnya seperti kepiting, rajungan, dan lain sebagainya (Puspawati & Simpen, 2010). Kitosan dapat larut dalam larutan asam dan memiliki karakteristik sebagai kation (Rokhati, 2006). Memodifikasi struktur kimianya dapat menghasilkan senyawa turunan kitosan yang mempunyai sifat kimia yang lebih baik sehingga dapat memperluas aplikasi kitosan. Salah satu modifikasi gugus pada kitosan adalah penggantian gugus hidroksil dengan gugus karboksilat menjadi *Chitosan Modified Carboxymethyl* (Saputro & Mahardiani, 2011) atau karboksimetil kitosan (Kurniasih, Purwati, & Zaki, 2014; Basmal, Prasetyo & Farida, 2007).

Proses pembuatan karboksimetil kitosan melalui proses *slurry*, yaitu proses perubahan kitosan ke sifat basa melalui proses pelarutan dalam asam organik encer diteruskan dengan penambahan

larutan natrium hidroksida hingga kitosan bersifat basa yang kemudian dialirkan larutan asam monokloroasetat secara perlahan-lahan (Basmal, et al., 2007). Karboksimetil kitosan memberikan luas permukaan yang lebih besar dalam mengadsorpsi kolesterol dibandingkan dengan menggunakan kitosan (Subramaniam & Prinyawiwatkul, 2004). Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan kondisi optimum adsorpsi kolesterol menggunakan karboksimetil kitosan dengan variasi massa adsorben dengan kolesterol, waktu kontak dan suhu reaksi.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan adalah limbah kulit udang, NaOH, HCl, NaOCl, aquades, kolesterol standar, asam asetat, metanol, asam monokloroasetat, kloroform, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, H_2SO_4 dan kertas pH universal. Alat-alat yang digunakan adalah timbangan analitik, oven, kompor listrik, *waterbath*, termometer, *hotplate-stirer*, tanur, *Fourier Transform Infra-Red Spectrophotometer* (FTIR) 8201 Shimadzu, dan Spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1800.

Prosedur Penelitian

Sintesis kitosan

Sintesis kitosan yang dilakukan mengacu pada Kurniasih & Kartika (2011). Serbuk kulit udang dideproteinasi NaOH 4% pada suhu 80 °C, didemineralisasi selama 3 jam menggunakan dengan HCl dan dilanjutkan dengan dekolorisasi menggunakan NaOCl. Endapan yang diperoleh merupakan kitin, kemudian dideasetilasi dengan menambahkan NaOH 60% pada suhu 120 °C. Kitosan yang diperoleh kemudian dicuci sampai netral dan dikeringkan.

Sintesis karboksimetil kitosan

Sintesis karboksimetil kitosan dilakukan dengan memodifikasi metode

Nada, El-Sakhawy, Kamel, Eid, & Adel (2005). Kitosan dialkalinasi menggunakan larutan NaOH 20% sebanyak 100 mL selama 15 menit. Asam monokloroasetat sebanyak 15 gram kemudian ditambahkan ke dalam larutan kitosan dan diaduk selama 2 jam pada suhu 60 °C. Campuran ini kemudian dinetralkan dengan larutan asam asetat 10%, kemudian dituang ke dalam larutan metanol 70% berlebih. Campuran larutan selanjutnya disaring dan dicuci dengan metanol. Produk kitosan termodifikasi karboksimetil yang diperoleh kemudian dikeringkan.

Karakterisasi kitosan dan karboksimetil kitosan hasil sintesis

Karakterisasi dengan FTIR (Fourier Transform Infra-Red). Kitosan dan karboksimetil kitosan yang diperoleh kemudian diidentifikasi menggunakan spektroskopi FTIR untuk menentukan gugus karakteristiknya dan juga menghitung besar derajat deasetilasi kitosan.

Penentuan kadar air mengacu pada *Association of Official Analytical Chemist [AOAC] (2005)*. Sampel dimasukkan ke dalam cawan porselen yang telah diketahui bobotnya, kemudian dipanaskan dalam oven bersuhu 105 °C sampai bobotnya konstan. Sampel dimasukkan ke dalam desikator terlebih dahulu sebelum ditimbang.

Penentuan bobot molekul mengacu kepada Cervera et al. (2004). Bobot molekul sampel diukur berdasarkan viskositas instrinsik (η). Larutan kitosan dibuat dalam variasi konsentrasi 0,1-0,5% dalam pelarut asam asetat 0,1 M dan sodium klorida 0,2 M (1:2) lalu dimasukkan ke dalam viskometer Ostwald. Data yang diperoleh dipetakan pada grafik η_{sp}/C terhadap C . Viskositas instrinsik adalah titik pada grafik yang menunjukkan nilai $C=0$. Berat molekul ditentukan berdasarkan persamaan Mark-Houwink yaitu:

$$[\eta] = K_m(M_w)^\alpha$$

Dimana:

$[\eta]$ adalah viskositas instrinsik, K_m adalah konstanta pelarut ($1,81 \times 10^{-3}$), α adalah konstanta (0,93), dan M_w adalah bobot molekul.

Penentuan kadar abu mengacu pada AOAC (2005). Cawan porselen dibersihkan dan dimasukkan ke dalam tanur untuk menghilangkan sisa-sisa kotoran yang menempel dalam cawan, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Sampel dimasukkan ke dalam cawan tersebut dan dipanaskan sampai tidak berasap, kemudian dibakar pada suhu 600 °C dalam tanur pengabuan sampai diperoleh abu berwarna putih. Setelah itu, cawan beserta isinya dimasukkan ke dalam desikator dan ditimbang.

Uji Kelarutan mengacu pada Zahiruddin, Ariesta, & Salamah (2008). Sampel dimasukkan ke dalam gelas piala dan ditambahkan pelarut (asam asetat 1%) sedikit demi sedikit sambil diaduk sampai larut semua dan homogen. Larutan asam asetat yang digunakan kemudian dihitung volumenya.

Penentuan porositas mengacu pada (Sekomo, Rousseu & Lens, 2011). Porositas η (%) dihitung dari rata-rata *bulk density* (ρ_b) dan *particle density* (ρ_p).

$$\eta = \left(1 - \frac{\rho_b}{\rho_p}\right) \times 100$$

Bulk density dihitung dengan persamaan $\rho_b = \frac{m_{v,r}}{V_1}$, dimana $m_{v,r}$ adalah massa sampel padatan yang menempati suatu volume gelas ukur (V_1). *Particle density* ρ_p (g/mL) dihitung dengan persamaan $\rho_p = \frac{m_{v,r}}{V_2}$ dimana $m_{v,r}$ adalah massa sampel padatan yang ditambahkan ke aquades dalam gelas ukur dan V_2 adalah volume padatan yang dihitung sebagai volume total dikurangi volume aquades.

Penentuan swelling mengacu pada Tiwary dan Rana (2010) serta Yadav dan Shivakumar (2012). Sampel yang diketahui beratnya dimasukkan pada buffer fosfat pH 7,4 selama 8 jam. Sampel kemudian disaring dan ditimbang.

Optimasi adsorpsi kolesterol menggunakan karboksimetil kitosan

Pengukuran kolesterol dengan spektrofotometer UV-Vis mengacu pada Okpuzor et al. (2009).

Penentuan panjang gelombang maksimum. Sebanyak 0,05 mL larutan standar kolesterol 10 ppm dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL, kemudian ditambahkan kloroform sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen. Larutan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam gelas piala dan diuapkan dalam *waterbath* pada suhu 50 °C sampai menjadi kering. Supernatan kering yang dihasilkan selanjutnya ditambahkan 4 mL asam asetat glasial dan 1,5 mL reagen pewarna lalu dikocok. Campuran larutan kemudian didiamkan selama 30 menit kemudian diukur panjang gelombang maksimumnya.

Penentuan kestabilan kompleks. Sebanyak 0,05 mL larutan standar kolesterol 10 ppm dimasukkan ke dalam 5 buah labu takar 10 mL, kemudian ditambahkan kloroform sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen. Larutan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam gelas piala dan diuapkan dalam *waterbath* pada suhu 50 °C sampai kering. Supernatan kering yang dihasilkan ditambahkan dengan 4 mL asam asetat glasial dan 1,5 mL reagen pewarna lalu dikocok. Campuran larutan kemudian didiamkan selama variasi waktu 15, 30, 45, 60 dan 75 menit diukur pada panjang gelombang maksimumnya.

Pembuatan kurva standar. Larutan standar kolesterol 5, 10, 15, 20 dan 25

ppm sebanyak 10 mL, dituang ke dalam gelas piala dan diuapkan dalam *waterbath* pada suhu 50 °C sampai kering. Supernatan yang telah kering ditambahkan 4 mL asam asetat glasial dan 1,5 mL reagen pewarna lalu dikocok. Campuran larutan yang dihasilkan selanjutnya didiamkan selama waktu optimum, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Sebagai blanko digunakan 2 mL kloroform yang ditambahkan 4 mL asam asetat glasial dan 1,5 mL reagen pewarna.

Rancangan Percobaan. Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan *full factorial*. Sebagai variabel terikat adalah suhu 40 dan 50 °C. Sebagai variabel bebas pertama (W) adalah waktu kontak (menit) yaitu 30, 60, 90, dan 120 menit. Sebagai variabel bebas kedua (M) adalah massa adsorben dengan kolesterol (g/mL) yaitu 1:100, 1:150, 1:200 dan 1:300. Rancangan percobaan yang dilakukan tersaji pada **Tabel 1**.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesis Kitosan

Sintesis kitosan terdiri dari tahap: deproteinasi, demineralisasi, dekolorisasi dan deasetilasi. Tahap deproteinasi untuk menghilangkan protein yang terdapat pada kulit udang. Efisiensi deproteinasi bergantung pada konsentrasi basa, suhu, dan spesies sumber kitin. Prosesnya yaitu ion Na⁺ dari hasil disosiasi NaOH akan berikatan dengan protein dan membentuk Na-proteinat yang larut dalam air (Kurniasih & Kartika, 2011).

Tabel 1. Rancangan percobaan optimasi adsorpsi kolesterol menggunakan karboksimetil kitosan.

W/M	W1	W2	W3	W4
M1	T(x)M1W1	T(x)M1W2	T(x)M1W3	T(x)M1W4
M2	T(x)M2W1	T(x)M2W2	T(x)M2W3	T(x)M2W4
M3	T(x)M3W1	T(x)M3W2	T(x)M3W3	T(x)M3W4
M4	T(x)M4W1	T(x)M4W2	T(x)M4W3	T(x)M4W4
Keterangan:	T1= 40 °C	T2= 55 °C		
M1= 1:100	M2= 1:150	M3= 1:200	M4= 1:300	
W1= 30 menit	W2= 60 menit	W3= 90 menit	W4= 120 menit	

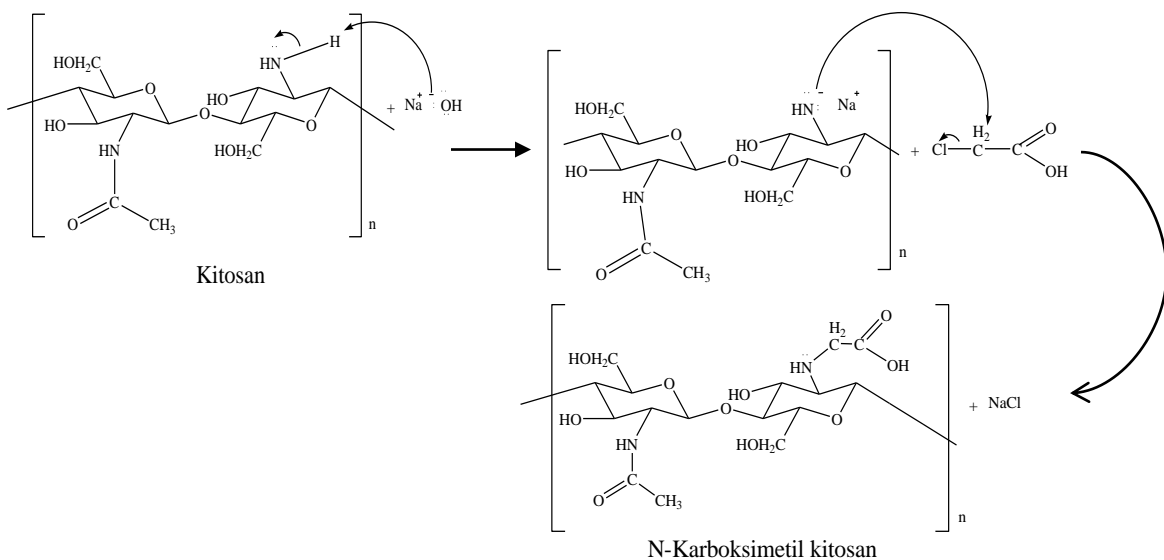
Tahap demineralisasi bertujuan untuk menghilangkan mineral-mineral pada kulit udang (Kurniasih & Kartika, 2011). Efektivitas proses demineralisasi ditunjukkan dalam menurunnya kadar abu. Perendaman pada suhu kamar lebih banyak dilakukan karena untuk meminimalkan hidrolisis pada rantai polimer. Pengadukan yang konstan akan menyebabkan panas yang merata sehingga pelarut HCl dapat mengikat mineral secara sempurna. Jika reaksi demineralisasi melebihi 24 jam maka akan merusak kitin sehingga deasetilasi tidak sempurna (Synoweiecky & Al-Khateeb, 2003).

Serbuk udang masih mengandung pigmen warna astaxanthin yang termasuk ke dalam golongan karotenoid yang terdapat pada serbuk kulit udang (Pamungkas, 2007). Tahap dekolorisasi bertujuan untuk menghasilkan produk kitin yang tidak berwarna dengan menghilangkan astaxanthin (Aranaz et al., 2009). Tahap terakhir adalah tahap deasetilasi untuk menghilangkan gugus asetil dari kitin. Faktor-faktor yang mempengaruhi proses deasetilasi diantaranya konsentrasi NaOH,

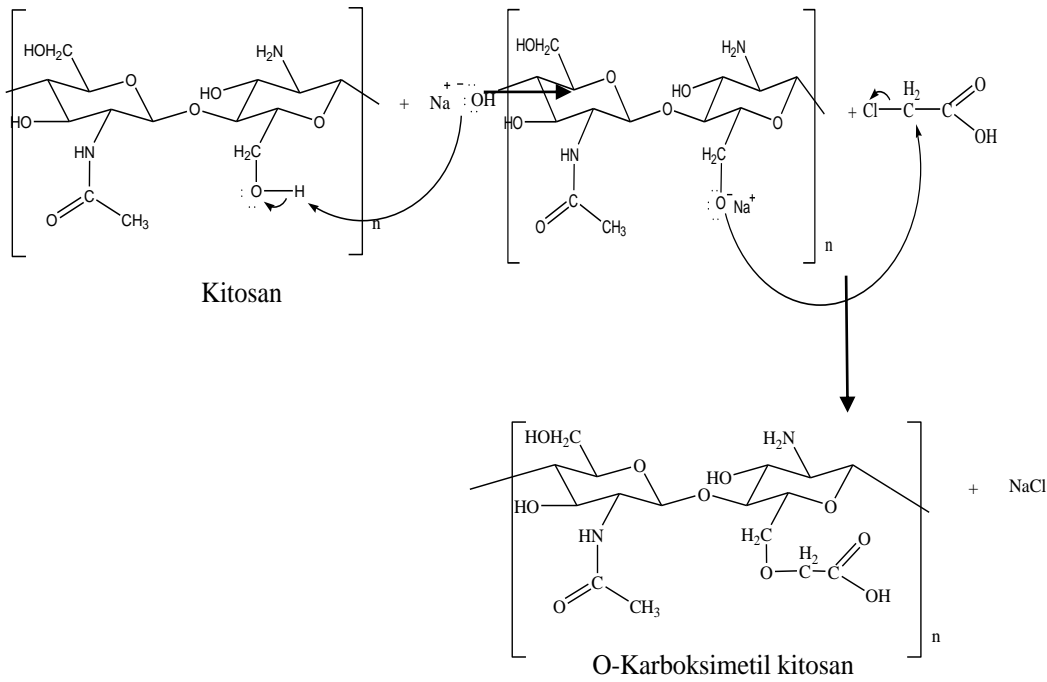
temperatur dan waktu reaksi (Puspawati & Simpen, 2010). Berdasarkan hasil penelitian diperoleh rata-rata rendemen dari proses deproteinasi, demineralisasi, dekolorisasi dan deasetilasi adalah 78,20%, 30,13%, 29,44% dan 19,65% dari berat kulit udang. Rendemen dari kitosan yang dihasilkan tergantung dari konsentrasi HCl yang digunakan, konsentrasi HCl yang rendah tidak dapat menghilangkan mineral-mineral dalam kulit udang dan akibatnya dapat meningkatkan rendemen (Hossain & Iqbal, 2014).

Sintesis Karboksimetil Kitosan

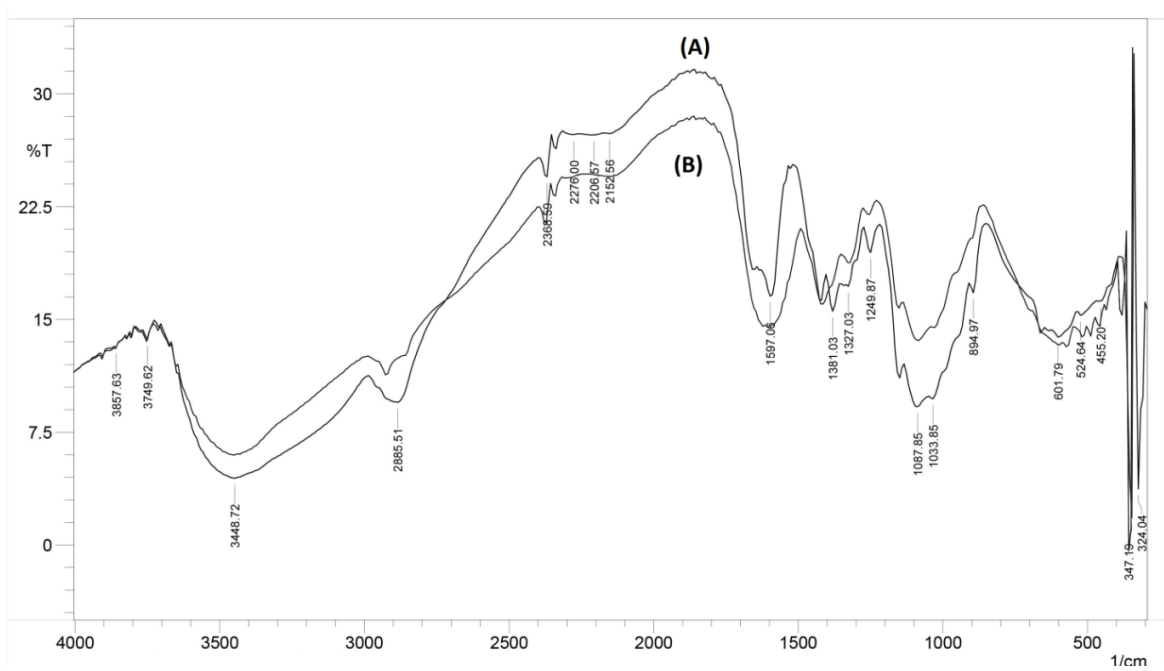
Karboksimetil kitosan disintesis melalui suatu proses karboksimetilasi alkalis kitosan dengan asam monokloroasetat. Menurut Kurniasih et al. (2014), sintesis karboksimetil kitosan dipengaruhi oleh konsentrasi NaOH (proses alkalinasi), perbandingan kitosan dengan asam monokloroasetat, suhu dan waktu reaksi. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh rendemen karboksimetil kitosan sebesar 31,37%. Reaksi yang terjadi pada sintesis karboksimetil kitosan tersaji pada **Gambar 1** dan **Gambar 2**.



Gambar 1. Mekanisme reaksi pembentukan N-karboksimetil kitosan



Gambar 2. Mekanisme reaksi pembentukan O-karboksimetil kitosan



Gambar 3. Spektra IR kitosan (A) dan karboksimetil kitosan (B)

Karakterisasi Kitosan dan Karboksimetil Kitosan Hasil Sintesis

Kitosan dan karboksimetil kitosan hasil sintesis kemudian dianalisis dengan FTIR untuk mengetahui gugus-gugus fungsi karakteristiknya dan untuk menentukan nilai derajat deasetilasinya kitosan. Spektra IR kitosan dan karboksimetil kitosan disajikan dalam Gambar 3.

Spektra IR kitosan menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang 3448 cm^{-1} yang merupakan serapan tumpang tindih antara O-H dan N-H. Pada bilangan gelombang 2885 cm^{-1} merupakan vibrasi regang C-H pada $-\text{CH}_2$. Pada daerah 1658 cm^{-1} terjadi serapan regangan C=O yang menandakan adanya keberadaan gugus asetil, sedangkan pada bilangan gelombang 1589 cm^{-1}

menunjukkan adanya bengkokan dari NH_2 . Bilangan gelombang 1419 cm^{-1} merupakan serapan bengkok $-\text{CH}_2-$, sedangkan pada bilangan gelombang 1381 cm^{-1} menunjukkan serapan ulur C-N. karena masih adanya kandungan gugus asetil yang masih banyak terdapat pada kitosan. Berdasarkan perhitungan dengan menggunakan *baseline b* derajat deasetilasi kitosan yang didapatkan sebesar 81,6%. Derajat deasetilasi dipengaruhi oleh konsentrasi NaOH (Hossain & Iqbal, 2014).

Serapan yang melebar pada 3441 cm^{-1} pada spektra IR karboksimetil kitosan merupakan vibrasi ulur $-\text{OH}$. Terjadi pelebaran spektrum pada karboksimetil kitosan dikarenakan adanya gugus karboksil yang membentuk dimer dengan ikatan hidrogen. Vibrasi rentangan C-H alifatik terjadi pada bilangan gelombang 2924 cm^{-1} . Pada bilangan gelombang 1589 cm^{-1} menunjukkan adanya pelebaran gugus $\text{C}=\text{O}$ yang semakin banyak, dengan demikian pada daerah tersebut telah terbentuk karboksimetil kitosan. Terbentuknya karboksimetil kitosan dapat dilihat dengan kemunculan puncak $-\text{OH}$ dan $\text{C}=\text{O}$, selain itu diperkuat dengan adanya serapan eter (vibrasi ulur C-O) yang semakin menajam dibandingkan dengan spektra IR kitosan bilangan gelombang $1000-1300\text{ cm}^{-1}$.

Selain karakterisasi dengan FTIR, kitosan dan karboksimetil kitosan juga diukur berat molekul, kadar air dan abu, kelarutan, porositas serta nilai *swelling*nya. Hasil yang diperoleh tersaji pada **Tabel 2**.

Hasil analisis menunjukkan bahwa berat molekul karboksimetil kitosan lebih kecil dibandingkan bobot molekul kitosan yang digunakan. Penggunaan suhu tinggi dan waktu sintesis yang cukup lama memungkinkan terjadinya depolimerisasi rantai karboksimetil kitosan sehingga menurunkan bobot molekul karboksimetil kitosan (Kurniasih et al., 2014).

Kitosan memiliki nilai kadar air yang lebih kecil dibandingkan dengan karboksimetil kitosan. Hal ini membuktikan bahwa karboksimetil kitosan mampu mengikat molekul air yang lebih kuat, selain itu karboksimetil kitosan memiliki gugus karboksimetil yang lebih banyak dibandingkan dengan kitosan sehingga kemungkinan terjadinya ikatan hidrogen dengan molekul air lebih banyak, akibatnya molekul-molekul air terhidrat yang mengelilingi rantai karboksimetil kitosan lebih banyak dibandingkan yang mengelilingi rantai kitosan. Menurut Saputro dan Mahardiani (2011) kitosan bersifat hidroskopis sehingga dapat mempengaruhi penyerapan uap air saat penyimpanan.

Kadar abu karboksimetil kitosan lebih tinggi dibandingkan dengan kitosan. Kadar abu yang rendah menunjukkan kadar mineral yang rendah, semakin rendah kadar abu yang dihasilkan maka mutu dan tingkat kemurnian kitosan dan karboksimetil kitosan akan semakin tinggi. Kadar abu merupakan indikator untuk efektifitas proses demineralisasi untuk menghilangkan kalsium karbonat. Beberapa sisa abu pada kitosan dapat mempengaruhi kelarutannya, mengakibatkan viskositas yang rendah atau dapat mempengaruhi karakteristik penting dari produk akhir (Hossain & Iqbal, 2014).

Uji kelarutan merupakan salah satu parameter yang dapat dijadikan sebagai standar penilaian mutu kitosan dan karboksimetil kitosan. Semakin tinggi kelarutan maka aplikasi pada berbagai bidang akan semakin mudah. Nilai kelarutan kitosan lebih kecil dibandingkan dengan kelarutan karboksimetil kitosan baik dalam pelarut asam asetat maupun aquades. Menurut Basmal et al. (2007), nilai kelarutan karboksimetil kitosan sangat dipengaruhi oleh jumlah gugus karboksimetil yang bereaksi dengan kitosan pada C6 dan C2, semakin banyak gugus karboksimetil yang bereaksi maka tingkat kelarutan semakin tinggi.

Tabel 2. Karakteristik kitosan dan karboksimetil kitosan hasil sintesis

Karakteristik	Kitosan	Karboksimetil kitosan
Berat molekul	298.743,44 g/mol	65.213,68 g/mol
Kadar air	7,4%	10,2%
Kadar abu	0,14%	2,29%
Kelarutan dalam asam asetat 1%	0,02 g/mL	0,04 g/mL
Kelarutan dalam aquades	1.10^{-5} g/mL	$1,98.10^{-3}$ g/mL
Porositas	88,3 %	88,7%
Swelling	163,13%,	182,98%.

Kelarutan kitosan merupakan salah satu parameter penting untuk kualitas kitosan, di mana kelarutan yang tinggi akan menghasilkan kitosan yang lebih baik. Ada beberapa faktor penting yang mempengaruhi kelarutan kitosan diantaranya: suhu dan waktu deasetilasi, konsentrasi alkali, proses isolasi kitin, rasio kitin dan alkali saat deasetilasi, dan ukuran partikel (Hossain & Iqbal, 2014). Kelarutan karboksimetil kitosan dipengaruhi derajat substitusinya. Peningkatan suhu reaksi dapat menghasilkan karboksimetil kitosan yang larut dalam pH rendah. Karboksimetil kitosan dapat larut pada daerah pH yang menghasilkan agregasi dengan rantai asetat atau amida (Mourya, Inamdara & Tiwarib, 2010).

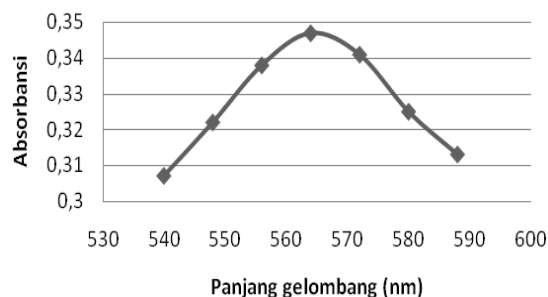
Porositas kitosan dan karboksimetil kitosan didapatkan dari perbandingan antara *bulk density* dengan *particle density*. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh *bulk density* untuk kitosan dan karboksimetil kitosan adalah 0,35 dan 0,34 g/mL. Sedangkan nilai *particle density* untuk kitosan dan karboksimetil kitosan sebesar 3,00 dan 3,01 g/mL. Hardjowigeno (2003) menyatakan apabila di dalam suatu sampel mempunyai porositas yang besar maka sampel akan lebih mudah menyerap air.

Swelling merupakan proses pengembangan suatu material. Persentase *swelling* pada kitosan lebih kecil dibandingkan karboksimetil kitosan, hal ini menunjukkan bahwa kemampuan

pengembangan yang terjadi pada karboksimetil kitosan lebih besar. Kemampuan mengikat air dipengaruhi oleh urutan tahapan demineralisasi dan deproteinasi dalam sintesis kitosan (Hossain & Iqbal, 2014)

Studi Optimasi Adsorpsi Kolesterol Menggunakan Karboksimetil Kitosan

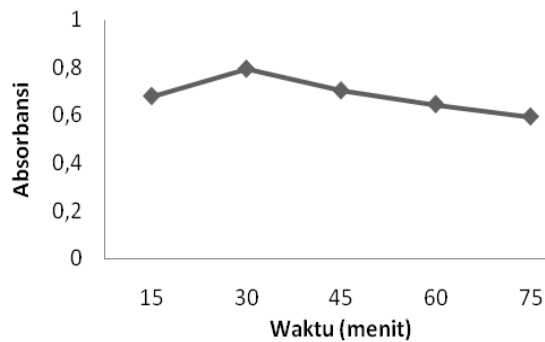
Penentuan panjang gelombang maksimum dan waktu kestabilan kompleks dilakukan dengan menggunakan larutan standar kolesterol 10 ppm. Hasil pengukuran yang diperoleh tersaji pada **Gambar 4** dan **Gambar 5**.



Gambar 4. Spektrum panjang gelombang maksimum kolesterol

Gambar 4 menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum pengukuran kolesterol dengan spektrofotometer UV-Vis adalah 564,90 nm, warna yang dihasilkan yaitu warna violet. Pengukuran serapan larutan pada panjang gelombang maksimum ini memiliki ketelitian yang tinggi dan dapat mengurangi kesalahan pengukuran dalam menentukan konsentrasi suatu senyawa secara spektrofotometri karena

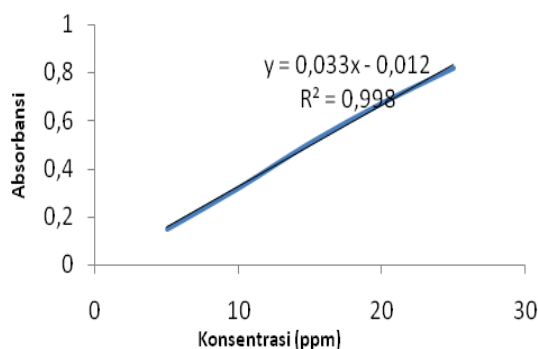
pengukuran pada panjang gelombang maksimum akan meningkatkan kepekaan analisis.



Gambar 5. Kurva penentuan kestabilan kompleks pada larutan standar kolesterol

Berdasarkan **Gambar 5**, pada 30 menit kompleks berada pada kondisi yang stabil, yang ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang terbesar. Hal ini dikarenakan pada waktu tersebut kompleks dapat menyerap energi secara maksimal sehingga pada waktu tersebut analisis dapat dilakukan (Amri, Siswanta & Mudasir, 2009).

Penentuan kurva standar dilakukan dengan menggunakan larutan kolesterol standar dengan variasi konsentrasi sebagai berikut 5, 10, 15, 20 dan 25 ppm. Berdasarkan dari hasil penelitian diperoleh kurva standar yang tersaji pada **Gambar 6**.



Gambar 6. Kurva standar larutan standar kolesterol

Dari grafik tersebut dihasilkan persamaan regresi $y = 0,033x - 0,012$ dengan nilai R^2 sebesar 0,998. Persamaan tersebut kemudian digunakan untuk menghitung kadar kolesterol pada penelitian ini.

Studi optimasi adsorpsi kolesterol yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan suhu pada 40 dan 55 °C dengan variabel bebas massa dan waktu. Hasil optimasi pada suhu 40 °C dengan variabel bebas massa dan waktu tersaji pada **Tabel 4**.

Berdasarkan **Tabel 4**, kondisi optimum adsorpsi kolesterol yang didapatkan pada suhu 40 °C sebesar 8,535 mg/g dengan perbandingan massa adsorben dan kolesterol (1:200) pada waktu kontak 90 menit. Hasil optimasi tersebut dapat dibuktikan dengan menggunakan uji ANOVA. Uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat pengaruh waktu, massa dan interaksi keduanya (waktu*massa) pada suhu 40 °C karena ketiganya mempunyai nilai *signifikan* kurang dari 0,05.

Uji lanjutan menggunakan Duncan terhadap waktu dan massa kemudian dilakukan untuk melihat perbedaan pengaruh tersebut. Uji Duncan ini dilakukan untuk mengetahui nilai tengah mana saja yang sama dan nilai mana saja yang tidak sama.

Berdasarkan uji lanjutan terhadap waktu dihasilkan rata-rata yang berbeda, terlihat dari keempat waktu yang berada pada subset yang berbeda dan tidak ada pada subset yang sama. Subset yang berbeda menunjukkan bahwa adanya perbedaan variasi antara waktu satu dengan waktu yang lainnya. Uji lanjutan menunjukkan nilai yang tertinggi pada subset waktu kontak 90 menit sebesar 3.7230 hal ini membuktikan bahwa pada kondisi 90 menit merupakan kondisi waktu optimum yang dapat digunakan untuk mengadsorpsi kolesterol secara maksimal oleh adsorben karboksimetil kitosan.

Uji lanjutan pada massa dihasilkan rata-rata yang berbeda, hal ini dapat dilihat dari keempat data yang berada pada subset yang berbeda. Subset yang berbeda menunjukkan bahwa adanya perbedaan variasi antara massa satu dengan massa yang lainnya.

Tabel 4. Hubungan massa dengan waktu pada suhu 40 °C

W/M	W1	W2	W3	W4
M1	0,057 mg/g	1,258 mg/g	1,479 mg/g	3,066 mg/g
M2	0,063 mg/g	1,908 mg/g	1,160 mg/g	1,886 mg/g
M3	6,966 mg/g	2,404 mg/g	8,535 mg/g	1,036 mg/g
M4	2,923 mg/g	3,699 mg/g	3,718 mg/g	0,639 mg/g

Tabel 5. Hubungan massa dengan waktu pada suhu 55 °C

W/M	W1	W2	W3	W4
M1	0,592 mg/g	3,201 mg/g	0,271 mg/g	0,087 mg/g
M2	3,642 mg/g	4,386 mg/g	0,431 mg/g	0,194 mg/g
M3	5,276 mg/g	0,298 mg/g	0,465 mg/g	0,493 mg/g
M4	7,708 mg/g	0,821 mg/g	0,481 mg/g	0,579 mg/g

Uji lanjutan menunjukkan nilai yang tertinggi pada subset perbandingan adsorben dengan kolesterol (1:200) sebesar 4.7353. Hal ini membuktikan bahwa pada kondisi perbandingan tersebut merupakan kondisi optimum untuk mengadsorpsi kolesterol dengan adsorben karboksimetil kitosan.

Berdasarkan uji lanjutan tersebut dapat disimpulkan bahwa adanya interaksi antara massa dan waktu pada suhu 40 °C yang dapat berpengaruh terhadap kemampuan karboksimetil kitosan mengadsorpsi kolesterol, oleh karena itu H_0 ditolak. Berdasarkan uji statistik, kondisi optimum yang didapatkan pada suhu 40 °C adalah perbandingan adsorben dengan kolesterol (1:200) dengan waktu kontak 90 menit. Kitosan memiliki gugus amino tersier bermuatan positif (NH_3^+) yang dapat berinteraksi dengan molekul bermuatan negatif seperti asam lemak dan asam empedu. Kitosan juga dapat berikatan dengan lipid netral seperti kolesterol dan trigliserida melalui ikatan hidrofobik (Tapola et al., 2008). Hasil pengukuran adsorpsi kolesterol dengan karboksimetil kitosan tersaji pada **Tabel 5**.

Berdasarkan **Tabel 5**, kondisi optimum adsorpsi kolesterol yang didapatkan pada suhu 50 °C sebesar 7,708 mg/g dengan perbandingan massa adsorben dan kolesterol (1:300) pada

waktu kontak 30 menit. Hasil uji statistik kondisi optimum diperoleh saat nilai *mean* terbesar yaitu perbandingan adsorben dengan kolesterol (1:300) pada waktu kontak 30 menit. Hasil optimasi tersebut dapat dibuktikan dengan menggunakan uji ANOVA. Uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat pengaruh waktu, massa dan interaksi keduanya (waktu*massa) pada suhu 55 °C karena ketiganya mempunyai nilai *signifikan* kurang dari 0,05. Untuk melihat perbedaan pengaruh tersebut maka dilakukan uji lanjutan menggunakan Duncan terhadap waktu dan massa.

Berdasarkan uji lanjutan terhadap waktu, menunjukkan bahwa data pada waktu kontak 90 dan 120 menit memberikan pengaruh yang sama karena keduanya berada pada subset yang sama sedangkan pada waktu kontak 30 dan 60 menit berada pada subset yang berbeda. Waktu kontak 90 dan 120 menit berada pada subset yang sama dikarenakan tidak ada perbedaan antar variasinya. Berdasarkan uji lanjutan nilai yang tertinggi berada pada subset waktu kontak 30 menit sebesar 4.300, hal ini membuktikan bahwa pada kondisi 30 menit merupakan kondisi waktu optimum pada suhu 55 °C yang dapat mengadsorpsi kolesterol secara optimal oleh karboksimetil kitosan.

Uji lanjutan pada massa dihasilkan rata-rata yang berbeda, hal ini dapat dilihat dari keempat data yang berada pada subset yang berbeda. Subset yang berbeda menunjukkan bahwa adanya perbedaan variasi antara massa satu dengan massa yang lainnya. Berdasarkan uji lanjutan nilai yang tertinggi berada pada subset perbandingan adsorben dengan kolesterol (1:300) sebesar 2.3973, hal ini membuktikan bahwa pada kondisi perbandingan adsorben dengan kolesterol (1:300) merupakan kondisi massa optimum yang dapat mengadsorpsi kolesterol secara optimal oleh adsorben karboksimetil kitosan. Berdasarkan uji lanjutan tersebut dapat disimpulkan bahwa adanya interaksi antara massa dan waktu pada suhu 55 °C yang dapat berpengaruh terhadap kemampuan karboksimetil kitosan mengadsorpsi kolesterol, oleh karena itu Ho ditolak. Kondisi optimum yang didapatkan pada suhu 55 °C adalah perbandingan adsorben dengan kolesterol (1:300) dengan waktu kontak 30 menit. Hal ini disebabkan oleh kecepatan difusi partikel kolesterol melalui pori-pori karboksimetil kitosan yang cepat. Karboksimetil kitosan merupakan biopolimer dan mudah terdispersi di dalam cairan.

Mekanisme pengikatan lemak oleh kitosan belum dimengerti secara utuh dan menyeluruh. Tetapi, sejumlah pengamatan penelitian mendukung terjadinya dua mekanisme dasar pengikatan. Pertama, melibatkan tarik menarik dua muatan yang berlawanan, layaknya tarikan kutub magnet. Jadi, kitosan yang mempunyai gugus bermuatan positif akan menarik muatan negatif dari asam lemak dan membentuk ikatan yang tak bias dicerna. Kedua, penetralan muatan. Dalam model ini kitosan menyelubungi sisi aktif lemak dan melindunginya dari serangan dan penguraian enzim-enzim lipida (Rismana, 2003).

KESIMPULAN

Karboksimetil kitosan mampu mengadsorpsi kolesterol secara optimal pada kondisi perbandingan adsorben dengan kolesterol (1:200) pada waktu kontak 90 menit, saat suhu sistem 40 °C. Sedangkan pada suhu sistem 50 °C kondisi optimum adsorpsi kolesterol pada kondisi perbandingan massa adsorben dan kolesterol (1:300) pada waktu kontak 30 menit.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada DIPA UNSOED yang telah membiayai penelitian ini sebagai Riset Pemula tahun anggaran 2012.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. (2005). *Official methods of analysis*. 15th Edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.
- Amri, C., Siswanta, D., & Mudasir. (2009). Metode penentuan nitrit sebagai kompleks 4-(4-nitrobenzenazo)-1-aminonaftalen secara ekstraksi-spektrofotometri. *Indonesian Journal of Chemistry*, 9(2), 254-260.
- Aranaz I., Mengibar M., Harris R., Paños I., Miralles B., Acosta N., ...& Heras Á. (2009). Functional characterization of chitin and chitosan. *Current Chemical Biology*, 3, 203-230.
- Basmal, J., Prasetyo A. & Farida Y. (2007). Pengaruh suhu eterifikasi terhadap kualitas dan kuantitas kitosan larut air yang dibuat dari cangkang rajungan. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 2(2), 99-106.
- Cervera, Fernandez, M., Heinamaki, J., Rasanen, M., Maunu, S.L., Karjalainen, M., & Yliruusi J. (2004). Solid-state characterization of chitosans derived from lobster

- chitin. *Carbohydrate Polymers*, 58, 401–408.
- Hardjowigeno, S.(2003). *Ilmu tanah*. Jakarta: Akademika Presindo.
- Hargono, A. & Sumandri, I. (2008). Pembuatan kitosan dari limbah cangkang udang serta aplikasinya dalam mereduksi kolesterol lemak kambing. *Jurnal Teknik Kimia*, 12(1), 53-57.
- Hossain, M. S., & Iqbal, J. A. (2014). Production and characterization of chitosan from shrimp waste, *Journal of the Bangladesh Agricultural University*, 12(1), 153–160.
- Kurniasih, M. & Kartika, D. (2011). Sintesis dan karakterisasi fisika-kimia kitosan. *Jurnal Inovasi*, 5(1), 42-48.
- Kurniasih, M., Purwati, & Zaki, M. (2014). Optimum conditions for the synthesis of high solubility carboxymethyl chitosan. *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 10(4), 189-195.
- Mouryaa, V.K, Inamdara, N. N., & Tiwarib, A. (2010). Carboxymethyl chitosan and its applications. *Advanced Materials Letters*, 1(1), 11-33.
- Nada, A. M. A., El-Sakhawy, M., Kamel, S., Eid, M. A. M, & Adel, A. M., (2005) Effect of chitosan and its derivatives on the mechanical and electrical properties of paper sheets. *Egyptian Journal of Solids*, 28(2), 359-377.
- Okpuzor, J., Okochi V.I., Ogbunugafor H.A., Ogbonnia S., Fagbayi T., & Obidiegwu C.(2009). Estimation of cholesterol level in different brands of vegetables oil. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(1),57-62.
- Osman, H. & Chin, Y. K. (2006). Comparative sensitivities of cholesterol analysis using GC, HPLC and spectrophotometric methods. *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 10(2), 205-210.
- Pamungkas, B.F. (2007). Pengaruh variasi konsentrasi HCl dan NaOH serta lama proses terhadap karakteristik kitin dari kulit kepala udang putih. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 2(2), 64-69.
- Puspawati, N. M. & Simpen, I. N. (2010). Optimasi deasetilasi khitin dari kulit udang dan cangkang kepiting limbah restoran seafood menjadi khitosan melalui variasi konsentrasi NaOH. *Jurnal Kimia*, 4(1), 79-90.
- Rismana, E. (2008). *Serat kitosan mengikat lemak*. Pusat P2 Teknologi Farmasi dan Medika. BPTT: Jakarta.
- Rokhati, N. (2006). Pengaruh derajat deasetilasi khitosan dari kulit udang terhadap aplikasinya sebagai pengawet makanan. *Reaktor*,10(2), 54-58.
- Saputro, A. N. C. & Mahardiani, L. (2011). Sintesis senyawa turunan kitosan “chitosan modified carboxymethyl (Cs-Mcm)” dan aplikasinya sebagai agen perbaikan mutu kertas daur ulang. *Jurnal EKOSAINS*, 3(1), 47-54.
- Sanif (2008). *Bahaya kolesterol*. diakses di <http://www.moreinfo.com.au/getwell>
- Sekomo, C.B., Rousseu, D.P.L., & Lens, P.N.L. (2011). Use of gisenyl volcanic rock faor adsorptive removal of Cd(II), cu(II), Pb(II), and Zn(II) from wastewater. *Waste, Air, and Soil Pollution*, 2, 533-547.
- Subramaniam, S. & Prinyawiatkul W. (2004). Adsorption of free fatty acid in crude catfish oil onto chitosan, activated carbon, and activated earth: a kinetics study. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81,493–496.
- Synoweiecky, J., & Al-Khateeb, N.A. (2003). Production, properties, and some new applications of chitin and its derivates. *Critical Reviews in Food Science and Nutrions*, 43 (2), 145-171.

- Tapola, N. S., Lyyra, M. L., Kolehmainen, R. M., Sarkkinen, E. S. & Schauss, A. G. (2008). Safety aspects and cholesterol-lowering efficacy of chitosan tablets. *Journal of the American College of Nutrition*, 27(1), 22–30.
- Tiwary, A.K. & Rana, V. (2010). cross-linked chitosan films: effect of cross-linking density on swelling parameters. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23(4), 443-448.
- Yadav, H. K. S. & Shivakumar, H. G. (2012). *In vitro* and *in vivo* evaluation of pH-sensitive hydrogels of carboxymethyl chitosan for intestinal delivery of theophylline, *ISRN Pharmaceutics*, Vol. 2012, Article ID 763127, 9 pages, doi:10.5402/2012/763127.
- Zahiruddin, W., Ariesta, A. & Salamah, E. (2008). Karakterisasi mutu dan kelarutan kitosan dari ampas silase kepala udang windu (*Penaeus monodon*). *Jurnal Buletin Teknologi Hasil Perikanan*, 11(2), 140-151.