

Konversi Limbah Cangkang Kepiting Menjadi *Chitosan Beads* sebagai Matriks Pendukung pada Proses Imobilisasi Lipase

Conversion of Crab Shell Waste Into Chitosan Beads as Supporting Matrix on Immobilization Process of Lipase

Susan Primadevi¹, Tri Joko Raharjo², Respati Tri Swasono³

¹Jurusan D-III Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi, email: sanchemic.nnes@gmail.com
^{2,3}Jurusan S2 Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRAK

Limbah cangkang kepiting dapat diproses menjadi kitosan melalui reaksi deproteinasi, demineralisasi dan deasetilasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan chitosan beads sebagai matriks pendukung pada proses imobilisasi lipase yang mampu meningkatkan stabilitas termal enzim lipase bebas. Kitosan yang diperoleh dianalisis dengan FTIR dan dikarakterisasi kadar air, kadar abu dan kadar nitrogen. Tahap selanjutnya, kitosan dimodifikasi bentuknya menjadi chitosan beads melalui proses penggembungan kemudian diikat silang dengan glutaraldehid. Chitosan beads yang sudah diikat silang diimobilisasikan ke dalam larutan lipase 1% yang dilarutkan dalam bufer fosfat pH 6. Enzim lipase terimobilisasi diuji stabilitas termalnya melalui reaksi transesterifikasi antara minyak kelapa dengan metanol serta diamati aktivitas transesterase enzim lipase bebas dan enzim lipase terimobilisasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kitosan memiliki derajat deasetilasi 70,53% berdasarkan baseline-a dan 82,84% berdasarkan baseline-b. Kadar air, kadar abu dan kadar nitrogen kitosan berturut-turut yaitu 14,13±0,01%, 0,75±0,13% dan 7,27±0,09%. Stabilitas termal enzim lipase terimobilisasi mengalami penurunan sebesar 20-40%, sedangkan enzim lipase bebas mengalami penurunan sebesar 30-45% pada temperatur pemanasan awal 35-45 °C. Penurunan aktivitas terbesar terjadi pada saat temperatur pemanasan awal 45-50 °C yaitu 51,81% untuk enzim lipase terimobilisasi dan 97,29% untuk enzim lipase bebas.

Kata kunci : chitosan beads, imobilisasi lipase, stabilitas termal

ABSTRACT

Crab shell waste can be processed into chitosan by deproteinization reaction, demineralization and deacetylation. The study was aimed to examine the influence of chitosan beads as support material on lipase's immobilization which increased its thermal stability. Product of deacetylation were analyzed by FTIR and characterized its water content, ash content, and nitrogen content. The shape of chitosan was modified into chitosan beads through swelling process then crosslinked using glutaraldehyde. Crosslinked beads were immobilized with 1% of lipase in phosphate buffer pH 6. Immobilized lipase were assayed its thermal stability by transesterification reaction of palm oil using methanol. Transesterase activity of immobilized lipase was compared with free lipase. The experiment's results indicated that the deacetylation degree of chitosan were 70,53% on baseline a and 82,84% on baseline b. Characteristics of chitosan that used on immobilization of lipase in this research had followed: 14,13±0,01% of water content, 0,75±0,13% of ash content, and 7,27±0,09 % of nitrogen content. Thermal activity of the immobilized lipase decreased 20-40%, while activity of free lipase decreased 30-45% at the preheating temperature 35-45 °C. The largest decrease of immobilized lipase and free lipase activity occurred at temperature of 45-50 °C with the value of decreasing were 51.81% and 97.29%.

Keywords : Chitosan beads, Immobilization of lipase, Thermal stability

PENDAHULUAN

Perairan Indonesia memiliki potensi yang sangat besar, baik dari segi jenis maupun volume produksinya. Salah satu komoditas perikanan Indonesia yang bernilai ekspor adalah kepiting. Pada umumnya kepiting diekspor dalam bentuk daging beku sehingga limbah pengolahan kepiting terus meningkat. Selama ini limbah tersebut dikeringkan dan dimanfaatkan sebagai pakan ternak dan pupuk dengan nilai ekonomi yang

rendah. Seiring dengan semakin majunya ilmu pengetahuan dan teknologi kini limbah cangkang kepiting dapat dikonversi menjadi kitin dan kitosan (Fahmi, 1997).

Kitosan dapat dimodifikasi menjadi berbagai bentuk yaitu serpihan, butiran, gel, fiber dan membran. Salah satu modifikasi kitosan yaitu menjadi bentuk butiran. Modifikasi ini melalui proses *swelling* yaitu dengan cara melarutkan kitosan pada asam asetat sampai terbentuk gel

kemudian diteteskan pada larutan NaOH sehingga terbentuk *chitosan bead*. Proses *swelling* menghasilkan *chitosan bead* dengan porositas yang besar sebagai akibat repolimerisasi kitosan tersebut. Chin (2000) menyatakan bahwa kapasitas imobilisasi *chitosan bead* terhadap enzim tirosinase 14 kali lebih besar dibanding kitosan serbuk. *Chitosan bead* yang digunakan sebagai matriks pendukung juga mampu meningkatkan efisiensi penggunaan ulangnya karena *chitosan bead* lebih mudah dipisahkan dari produk dibandingkan kitosan serbuk.

Pemanfaatan kitosan sebagai matriks pendukung ternyata juga lebih baik dibandingkan dengan matriks pendukung yang lain seperti yang telah dilaporkan oleh Tcacenco *et al.* (2010), lipase yang diikat silang pada kitosan mampu menghasilkan biodiesel sebesar 63,26% sedangkan lipase terimobilisasi pada silika hanya mampu mengkonversi biodiesel sebesar 49,32%.

Aktivitas enzim lipase yang menarik untuk dipelajari adalah aktivitas transesterase. Keuntungan penggunaan enzim lipase pada reaksi transesterifikasi adalah kondisi operasi dapat dilakukan pada keadaan lunak (*mild*) dan proses pemisahan gliserol dapat dilakukan dengan mudah tanpa perlu dilakukan proses pemurnian atau menghasilkan limbah kimia. Hal tersebut menyebabkan reaksi enzimatik berpotensi untuk diaplikasikan pada pembuatan biodiesel karena bisa menghasilkan biodiesel dengan kualitas baik, rendemen yang tinggi, energi dan biaya produksi yang rendah.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji kemampuan *chitosan bead* dari limbah cangkang kepiting dalam meningkatkan stabilitas termal enzim lipase terimobilisasi.

METODE PENELITIAN

Bahan

Cangkang kepiting (diperoleh dari warung makan seafood di wilayah Stasiun Tugu Yogyakarta), enzim lipase pankreas babi (Merck), minyak kelapa sawit (Bimoli spesial), kertas saring *Whatman* 41, kertas saring, kertas indikator pH, akuades, bahan dari Merck berkualitas p.a, yaitu: natrium hidroksida (NaOH), asam klorida (HCl), metanol (CH₃OH), etanol (C₂H₅OH), asam asetat (CH₃COOH),

n-heksana, BF₃ dalam metanol, glutaraldehid, BSA (Bovin Serum Albumin), dan reagen biuret.

Metode Penelitian

Preparasi serbuk cangkang kepiting

Cangkang kepiting dibersihkan dan direndam dalam larutan kaporit teknis 4 % selama 15 menit. Kemudian cangkang kepiting dikeringkan pada suhu kamar dan ditumbuk sampai halus serta diayak dengan ayakan 250 mesh.

Pembuatan kitosan

Deproteinasi

Serbuk cangkang kepiting dicampurkan dengan larutan NaOH 4 % (b/v) perbandingan 1:10 dan dipanaskan selama 2 jam pada suhu 65 °C. Residu dicuci dengan akuades sampai netral dan dikeringkan dalam oven pada suhu 65 °C selama 2 jam.

Demineralisasi

Demineralisasi dilakukan dengan cara mencampurkan residu dengan larutan HCl 1 M perbandingan 1 : 15 dan diaduk selama 3 jam pada suhu kamar. Residu dicuci dengan akuades sampai netral dan dikeringkan dalam oven pada suhu 65 °C selama 2 jam.

Deasetilasi

Kitin direaksikan dengan larutan NaOH 50 % (b/v) perbandingan 1:10 dan dipanaskan selama 1 jam pada suhu 100 °C. Residu dicuci dengan akuades hingga netral dan dikeringkan dalam oven selama 2 jam pada suhu 65 °C dan dianalisis dengan spektrofotometer FTIR.

Karakterisasi Kitin dan Kitosan

Kadar air (AOAC 1999)

Sebanyak 1 g kitin atau kitosan dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105 °C selama 3 jam, lalu didinginkan dalam desikator dan ditimbang sampai berat konstan.

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(X-Y)}{X} \times 100\%$$

X = berat kitin atau kitosan mula-mula (g)

Y = berat kitin atau kitosan kering (g)

Kadar abu (AOAC 1999)

Kitin atau kitosan sebanyak 0,5 g dimasukkan ke dalam cawan porselen yang telah diketahui beratnya. Selanjutnya, kitosan tersebut dibakar hingga tidak berasap, kemudian barulah dimasukkan ke dalam tanur pengabuan bersuhu 600°C sampai diperoleh abu berwarna putih. Setelah itu cawan tersebut didinginkan dalam desikator dan ditimbang.

$$\text{Kadar abu} = \frac{\text{berat abu(g)}}{\text{berat sampel (g)}} \times 100\%$$

Kadar nitrogen (AOAC 1999)

Kitin atau kitosan sebanyak 0,25 g dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl 100 mL, 3 mL H₂SO₄ pekat dan satu butir kjeltab. Campuran didestruksi pada suhu 410 °C selama 1 jam sampai larutan jernih lalu didinginkan. Setelah dingin, ke dalam labu Kjeldahl ditambahkan 50 mL akuades dan 20 mL NaOH 40 %, kemudian dilakukan proses destilasi pada suhu 100 °C. Hasil destilasi ditampung dalam labu Erlenmeyer 125 mL yang berisi campuran 10 ml asam borat (H₃BO₃) 2 % dan 2 tetes indikator bromcresol green-methyl red. Setelah volume destilat mencapai 40 mL dan berwarna hijau kebiruan, maka proses destilasi dihentikan. Lalu destilat dititrasi dengan HCl 0,1 N sampai terjadi perubahan warna merah muda.

$$\begin{aligned} &\text{Kadar nitrogen} \\ &= \frac{(\text{mL Hcl} - \text{mL blanko}) \times \text{N Hcl} \times 14,007}{\text{mg sampel}} \times 100\% \end{aligned}$$

Derajat Deasetilasi

Derajat deasetilasi kitin dan kitosan serbuk dapat dihitung berdasarkan perbandingan absorbansi gugus amida (sekitar 1655 cm⁻¹) dengan gugus hidroksil (sekitar 3450 cm⁻¹). Rasio absorbansi dihitung setelah terlebih dahulu ditentukan *base-line* pada masing-masing spektra, sehingga menghasilkan dua *base-line* yang berbeda di daerah serapan 1655 cm⁻¹ yaitu *base-line* a dan b.

Penentuan *base-line* a seperti yang diusulkan Domzy dan Robert dalam Hung (2002) dirumuskan sebagai berikut :

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

Penentuan base-line b seperti yang diusulkan Baxter dkk. pada Hung et al. (2002) dirumuskan sebagai berikut :

$$\text{DD} (\%) = 100 - \left\{ \frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times 115 \right\}$$

Pembuatan chitosan beads

Kitosan serbuk sebanyak 3 g dilarutkan dalam asam asetat 1% (v/v). Kemudian larutan kitosan diteteskan ke dalam 100 mL larutan NaOH 1 M dalam 26% (v/v) etanol. Campuran dibiarkan selama 3 jam, sampai terbentuk bola-bola gel. *Chitosan bead* dicuci dengan aquades hingga netral.

Imobilisasi lipase

Sebanyak 1 g *chitosan bead* direndam selama 10 menit dalam larutan glutaraldehid 0,75%. Kemudian *chitosan beads* direndam dalam 3 mL larutan enzim lipase 1% (dalam bufer fosfat 0,05 M pH 6) selama 60 menit. Campuran disaring dan dicuci dengan akuades dan bufer fosfat. Filtrat yang dihasilkan diukur volumenya dan dianalisis kadar proteinnya.

Karakterisasi minyak kelapa sawit

Minyak kelapa sawit sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi tertutup, ditambah 3 mL BF₃ dalam metanol, dan direaksikan selama 2,5 jam pada temperatur 60 °C. Ester yang telah terbentuk ditambah dengan 1 mL n-heksana hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan organik dipisahkan dan dianalisis menggunakan GC-MS.

Uji Aktivitas Transesterase Enzim Lipase Terimobilisasi

Minyak kelapa sawit ditambah dengan metanol perbandingan 1:6 lalu dimasukkan ke dalam botol falcon 50 mL. Kemudian ditambah dengan 10 µL air dan n-heksana sampai tanda batas. Ke dalam campuran tersebut dimasukkan 1 g *chitosan bead* terimobilisasi. Dengan prosedur yang sama, kontrol reaksi dibuat dengan cara mencampurkan minyak kelapa sawit dan metanol dengan penambahan enzim lipase bebas yang setara dengan enzim terimobilisasi. Kedua larutan kemudian direaksikan selama 5 jam pada

temperatur 37 °C. Setelah reaksi selesai, larutan disaring untuk memisahkan enzim. *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME) dianalisis menggunakan GC.

Uji stabilitas termal

Enzim terimobilisasi dan enzim lipase bebas sebelum digunakan pada reaksi transesterifikasi dipanaskan terlebih dahulu pada variasi temperatur, yaitu 35, 40, 45, dan 50 °C selama 15 menit. Enzim lipase terimobilisasi dan lipase bebas diuji aktivitasnya melalui reaksi transesterifikasi. FAME yang dihasilkan dianalisis dengan menggunakan GC.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Kitin dan Kitosan

Isolasi kitin diawali dengan tahap deproteinasi kemudian dilanjutkan dengan tahap demineralisasi, karena menurut Johnson dan Peniston (1982) deproteinasi yang dilakukan pada tahap awal dapat memaksimalkan hasil dan mutu protein serta mencegah kontaminasi protein pada proses demineralisasi. Kitin yang dihasilkan mempunyai rendemen sebesar 39,99±4,71%, sedangkan pada tahap deasetilasi dihasilkan kitosan yang berwarna putih kekuningan dengan rendemen sebesar 34,49±4,56%. Kualitas kitosan ditentukan dengan uji kadar abu, kadar air, dan kadar nitrogen seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Kadar abu dan kadar nitrogen yang diperoleh sesuai standar parameter kualitas kitosan namun kadar air kitosan yang diperoleh melebihi batas maksimum standar parameter kualitas kitosan yang ditetapkan. Hal ini disebabkan selama proses pengeringan kitosan diletakkan kurang merata (kitosan menggumpal) sehingga proses pengeringan menjadi tidak sempurna. Menurut Saleh *et al.* (1994), kadar air pada kitosan dipengaruhi oleh proses pengeringan, lama pengeringan yang dilakukan, jumlah kitosan yang dikeringkan dan luas tempat permukaan tempat kitosan yang dikeringkan.

Penentuan derajat deasetilasi kitin dan kitosan berdasarkan perbandingan absorbansi gugus amida (1655 cm⁻¹) dengan gugus hidroksi (3450 cm⁻¹) dari spektrum FTIR seperti yang disajikan pada gambar 1 dan gambar 2.

Pada penelitian ini perhitungan derajat deasetilasi menggunakan dua parameter yaitu baseline a seperti yang dikemukakan oleh Domzy dan Roberts dalam Hung *et al.* (2002) dan baseline b seperti yang dikemukakan Baxter dalam Hung *et al.* (2002).

Gambar 1:

Menurut *base-line a* :

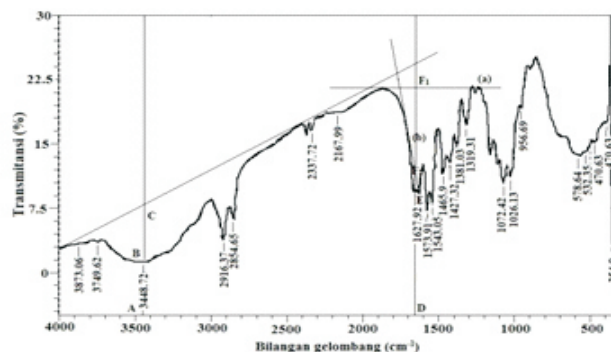
$$DD (\%) = 100 - \left\{ \frac{0,264}{0,301} \times \frac{100}{1,33} \right\} = 34,05\%$$

Menurut *base-line b* :

$$DD (\%) = 100 - \left\{ \frac{0,083}{0,301} \times 115 \right\} = 68,29\%$$

Tabel 1 Kadar abu, kadar air dan nitrogen kitosan

Macam Analisis	Hasil Penelitian (%)	Standar kualitas (%)
Kadar abu	0,75±0,13	< 2
Kadar air	14,13±0,01	< 10
Kadar nitrogen	7,27±0,09	> 7



Gambar 1. Spektrum FTIR kitin

Gambar 2:

Menurut *base-line a* :

$$DD (\%) = 100 - \left\{ \frac{0,176}{0,449} \times \frac{100}{1,33} \right\} = 70,53\%$$

Menurut *base-line b* :

$$DD (\%) = 100 - \left\{ \frac{0,067}{0,449} \times 115 \right\} = 82,84\%$$

Pembuatan *Chitosan beads*

Chitosan beads yang dihasilkan berbentuk bola gel yang berwarna putih dengan diameter rata-rata sebesar $3,62 \pm 0,43$ mm. Modifikasi kitosan serbuk menjadi *chitosan beads* bertujuan untuk meningkatkan efektivitas penggunaan ulang kitosan sebagai matriks pendukung dalam proses imobilisasi, karena setelah akhir reaksi enzim lipase terimobilisasi pada *chitosan bead* lebih mudah dipisahkan dari produk daripada enzim lipase terimobilisasi pada kitosan serbuk.

Imobilisasi Lipase pada *Chitosan beads*

Enzim dan *chitosan beads* susah berikatan secara langsung pada proses imobilisasi, oleh karena itu diperlukan glutaraldehida sebagai jembatan penghubung (Miao dan Swee, 2000). Interaksi yang terjadi antara gugus karbonil (-CHO) glutaraldehida dengan gugus amina (-NH₂) baik pada enzim dan *chitosan beads* yaitu melalui reaksi basa Schiff.

Parameter keberhasilan proses imobilisasi dapat dilihat dari nilai efisiensi imobilisasi. Semakin besar persentase efisiensi imobilisasi

mengindikasikan bahwa padatan pendukung yang digunakan mampu mengikat banyak enzim bebas yang ditambahkan pada proses imobilisasi. Pada penelitian ini proses imobilisasi dilakukan pada konsentrasi lipase 1 % dalam bufer fosfat pH 6 dengan *chitosan beads* pada konsentrasi 3% dan menghasilkan efisiensi imobilisasi sebesar 76,27%.

Komposisi Asam Lemak dalam Minyak Sawit

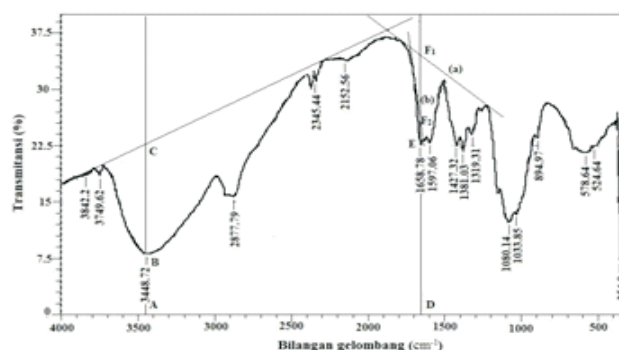
Komposisi asam lemak dalam minyak kelapa sawit (substrat) disajikan pada Tabel 2.

Berdasarkan komposisi asam lemak tersebut diperoleh berat molekul relatif minyak kelapa sawit sebesar 847,97 g/mol.

Aktivitas Transesterase Enzim Lipase Terimobilisasi

Aktivitas enzim lipase terimobilisasi diuji dengan menggunakan reaksi transesterifikasi minyak kelapa sawit dengan metanol. Hasil reaksi dianalisis dengan menggunakan kromatografi gas (GC). Perbandingan kromatogram hasil reaksi transesterifikasi antara perlakuan dengan penambahan enzim lipase terimobilisasi dan penambahan enzim lipase bebas disajikan pada Gambar 3 dan Gambar 4.

Pada kedua kromatogram tersebut diketahui ada empat macam ester yang dapat dideteksi yaitu metil miristat pada waktu retensi 10,094 (puncak ke-3) dan 10,044 (puncak ke-6), metil palmitat



Gambar 2. Spektrum FTIR kitosan

Tabel 2. Kandungan asam lemak minyak kelapa sawit

Asam Lemak	Kadar (%)
Asam laurat	-
Asam miristat	0,89
Asam palmitat	44,63
Asam oleat	49,51
Asam stearat	4,96

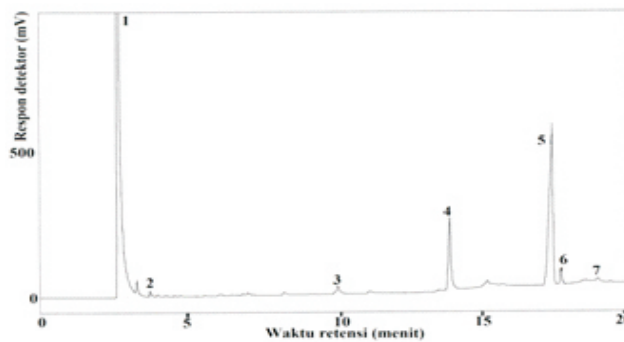
pada waktu retensi 13,888 (puncak ke-4) dan 13,806 (puncak ke-8), metil oleat pada waktu retensi 17,344 (puncak ke-5) dan 17,208 (puncak ke-12), metil stearat pada waktu retensi 17,667 (puncak ke-6) dan 17,567 (puncak ke-13). Keempat macam puncak yang muncul dapat terlihat bahwa puncak metil palmitat mempunyai resolusi yang baik dan bentuk puncak yang simetris sehingga puncak metil palmitat digunakan sebagai acuan untuk mengamati aktivitas enzim lipase. Analisis kuantitatif dilakukan dengan menghitung luas area metil palmitat yang dihasilkan. Aktivitas enzim lipase setara dengan luas area metil palmitat yang dihasilkan.

Berdasarkan kromatogram pada Gambar 3 dan 4 terdapat perbedaan luas area metil palmitat yang dihasilkan antara reaksi transesterifikasi yang dikatalisis oleh enzim lipase bebas dengan yang dikatalisis oleh enzim lipase terimobilisasi seperti yang disajikan pada tabel 3.

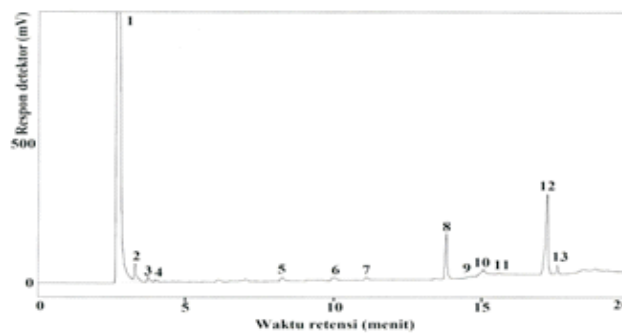
Tabel 3 menunjukkan bahwa proses imobilisasi

enzim lipase pada *chitosan beads* berhasil, diindikasikan dengan terbentuknya metil ester asam lemak (FAME). Luas area metil palmitat yang dihasilkan dari reaksi transesterifikasi yang dikatalisis oleh enzim lipase terimobilisasi lebih rendah dibandingkan dengan hasil reaksi transesterifikasi yang dikatalisis oleh enzim lipase bebas. Hal ini disebabkan adanya beberapa hambatan yang terjadi jika enzim berada dalam bentuk imobil. Hambatan-hambatan yang menyebabkan terjadinya penurunan aktivitas enzim terimobilisasi antara lain adanya pengaruh pembagian (*partitioning*), pengaruh hambatan difusi dan pengaruh hambatan sterik (Ferdiansyah, 2005).

Sifat-sifat fisiko kimia enzim dalam bentuk imobil fase barunya berbeda dengan fase lama, oleh karena itu semua komponen proses enzimatik seperti substrat, ion-ion hidrogen, produk, inhibitor, aktivator dan lainnya dibagi antara fase enzim imobil dan fase cairan luar. Hambatan



Gambar 3. Kromatogram aktivitas transesterase enzim lipase bebas



Gambar 4. Kromatogram aktivitas transesterase dengan penambahan enzim lipase terimobilisasi

Tabel 3. Perbandingan luas area metil palmitat hasil reaksi transesterifikasi

Reaksi transesterifikasi	Luas area metil palmitat
Dikatalisis enzim lipase bebas	1.504.525
Dikatalisis enzim lipase terimobilisasi	860.497

difusi dibagi menjadi dua bagian yaitu difusi eksternal dan difusi internal. Difusi eksternal disebabkan adanya transport substrat dari larutan ke permukaan biokatalis melalui lapisan ikatan dengan air. Difusi internal disebabkan substrat harus berdifusi masuk ke bagian dalam matriks enzim imobil. Hambatan sterik terjadi jika molekul substrat mempunyai berat molekul yang tinggi. Adanya hambatan-hambatan tersebut akan mempengaruhi aktivitas enzim, yang selanjutnya akan menyebabkan terjadinya penurunan kecepatan reaksi enzim (Ferdiansyah, 2005).

Selain itu aktivitas enzim lipase menjadi terhambat karena gugus fungsi pada glutaraldehid bereaksi dengan ion alkoksida pada serin yang merupakan sisi aktif enzim. Konformasi enzim juga mengalami perubahan karena terjadinya reaksi antara asam amino enzim dengan senyawa pengikat silang atau padatan pendukung yang ditambahkan. Perubahan konformasi ini disebabkan oleh perubahan gaya-gaya yang menentukan keseluruhan struktur enzim seperti gaya elektrostatik, gaya van der Waals dan interaksi hidrofobik. Fleksibilitas rantai juga akan berkurang sehingga enzim lipase yang terimobil pada chitosan bead yang terikat silang dengan glutaraldehid susah berinteraksi dengan substrat dibandingkan dengan enzim lipase bebasnya.

Stabilitas Termal

Enzim memiliki kondisi optimal dengan adanya perubahan temperatur. Laju reaksi akan meningkat seiring dengan adanya kenaikan temperatur sampai pada batas optimumnya. Aktivitas enzim akan menurun setelah melewati temperatur optimalnya, karena enzim akan mengalami denaturasi pada temperatur yang terlampau tinggi.

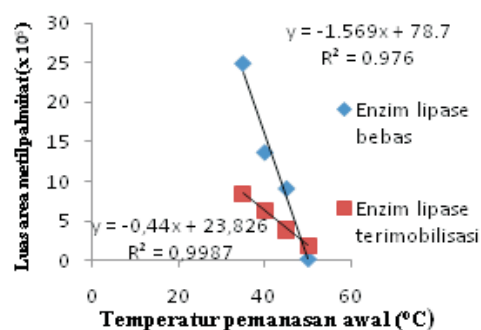
Pada penelitian ini dilakukan uji kestabilan termal untuk mengetahui perbedaan stabilitas enzim lipase terimobilisasi dan stabilitas enzim lipase bebas terhadap kenaikan temperatur. Perbandingan penurunan luas area metil palmitat hasil reaksi transesterifikasi antara reaksi yang dikatalisis oleh enzim lipase terimobil dengan enzim lipase bebas disajikan pada Gambar 5.

Pada temperatur pemanasan awal 45-50 °C, enzim lipase bebas mengalami penurunan aktivitas yang sangat drastis yaitu sebesar 97,29%, sedangkan enzim lipase terimobilisasi hanya mengalami penurunan aktivitas sebesar 51,81%. Hal ini mengindikasikan bahwa enzim lipase yang terimobilisasi lebih tahan terhadap kenaikan temperatur daripada enzim lipase bebas. Stabilitas termal enzim lipase terimobilisasi lebih bagus dibandingkan dengan enzim lipase bebas karena selama proses imobilisasi, pergerakan molekul enzim dibatasi sehingga tidak mudah terjadi perubahan konformasi yang drastis (Akoh, 2002).

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari percobaan ini adalah:

1. Derajat deasetilasi kitosan hasil isolasi dari cangkang kepiting yaitu 70,53% menurut baseline a dan 82,84% menurut baseline b.
2. Kitosan hasil karakterisasi mempunyai kadar air $14,13 \pm 0,01\%$, kadar abu $0,75 \pm 0,13\%$, dan kadar nitrogen $7,27 \pm 0,09\%$.
3. Stabilitas termal enzim lipase terimobilisasi lebih tinggi dibandingkan enzim lipase bebas, karena enzim lipase bebas mulai terdenaturasi pada temperatur pemanasan awal 45 °C sedangkan enzim lipase terimobilisasi mulai terdenaturasi pada temperatur pemanasan awal di atas 50 °C.



Gambar 5. Penurunan luas area metil palmitat terhadap temperatur pemanasan awal

DAFTAR PUSTAKA

- Akoh, C.C., and Min, D.B., 2002, *Food Lipid*. Marcel Dekker; Ink.
- AOAC, 1999, *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 5 th Revision, Vol. 2, Cunnif P (editor), AOAC International, Maryland.
- Chin W. F., 2000, Enhanced Abilities of Highly Swollen Chitosan Bead for Color Removal and Tyrosine Immobilization, *J. Hazard. Mater.*, 1381, 167-177.
- Fahmi, R., 1997, Isolasi dan Transformasi Kitin menjadi Kitosan, *Jurnal Kimia Andalas*, 3, 1, 61-68.
- Ferdiansyah, V., 2005, Pemanfaatan Kitosan dari Cangkang Udang sebagai Matriks Penyangga pada Imobilisasi Enzim Protease, *Skripsi*, Fak. Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB, Bogor.
- Hung, S., Peh, K.K., Khan, T.A., 2002, Reporting Degree of Deacetylation Value of Chitosan: The Influence of Analytical Methods, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 5 : 3, 205-212.
- Johnson, E. L., and Peniston, Q. P., 1982, *Utilization of Shellfish Waste for Production of Chitin and Chitosan Production*, in Chemistry and Biochemistry of Marine Food Product, AVI Publ., Westport Connecticut.
- Miao, Y., and Swee, N. T., 2000, Amperometric Hydrogen Peroxide Biosensor Based on Immobilization of Peroxidase in Chitosan Matrix Crosslinked with Glutaraldehyde, *Analyst*, 125, 1591-1594.
- Salah, M. R., Abdillah, Suerman, E., Basmal, J., dan Indriati, N., 1994, Pengaruh Suhu, Waktu dan Konsentrasi Pelarut pada Ekstraksi Kitosan dari Limbah Pengolahan Udang Beku terhadap Beberapa Parameter Mutu Kitosan, *Jurnal Pasca Panen Perikanan*, 81, 30-43.
- Tcacenco, L., Chirvase, A. A., Ungureanu, C., and Berteanu, E., 2010, The Preparation and Immobilization of Some Yeast Lipases for Rapessed Oil Transesterification to Biodiesel, *Rom. Biotechnol. Lett.*, 15(5), 5631-5639.