

ISBN :978-602-73159-0-7

SEMINAR NASIONAL
KIMIA DAN PENDIDIKAN
KIMIA VII



SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA VII

“Penguatan Profesi Bidang Kimia dan Pendidikan Kimia
Melalui Riset dan Evaluasi”

Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan P.MIPA FKIP UNS
Surakarta, 18 April 2015



MAKALAH
PENDAMPING

KIMIA ORGANIK

ISBN :978-602-73159-0-7

SINTESIS KITOSAN DARI UDANG WINDU DAN APPLIKASINYA SEBAGAI SENSOR INSULIN

Zulkarnain^{1,*}, Suprpto², Taslim Ersam², Fredy Kurniawan²

¹ Departemen Kimia Fakultas MIPA, ITS, Surabaya, Indonesia

² Departemen Kimia Fakultas MIPA, ITS, Surabaya, Indonesia

email: fredy@chem.its.ac.id

ABSTRAK

Limbah kulit udang di daerah *seafood industry* terus meningkat sehingga menimbulkan bau yang tidak sedap dan mengganggu kenyamanan masyarakat sekitar industri. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan pemanfaatan *local content* yang diaplikasikan pada pembuatan sensor. Limbah kulit udang Windu (*Penaeus monodon*) dari Gresik Jawa Timur telah berhasil disintesis menjadi kitosan melalui proses deasetilasi dari kitin. Kulit udang Windu dihaluskan menjadi 100 mesh kemudian dimasukkan ke dalam larutan NaOH 3,5 % lalu dipanaskan pada suhu 65 °C selama 4 jam. Kulit udang selanjutnya dimasukkan ke dalam larutan HCl 1 M pada suhu dan waktu yang sama. Residu kulit udang kemudian dimasukkan dalam larutan NaOH 60% dan dipanaskan pada suhu 110 °C selama 4 jam di dalam *oil bath*. Kitosan hasil sintesis telah dikarakterisasi dengan FTIR dan memiliki derajat deasetilasi (DD) sebesar 57%.

Kitosan hasil sintesis telah digunakan dalam pembuatan elektroda pasta untuk mendeteksi insulin dalam buffer fosfat pada pH 7.4. Pembuatan pasta elektroda dilakukan dengan mencampurkan bahan-bahan pasta menggunakan magnetik stirrer. Pasta elektroda yang berhasil dibuat terdiri dari kitosan sebanyak 60% dicampur dengan silika gel sebanyak 40% dan paraffin sebanyak 15% dari berat total campuran kitosan dan silika gel. Campuran tersebut dipanaskan dan diaduk sampai membentuk campuran pasta yang homogen, kemudian ditempelkan pada permukaan elektroda perak yang berada dalam tabung kaca. Elektroda pasta berbasis kitosan berhasil diaplikasikan untuk sensor insulin. Sensor insulin yang berhasil dibuat menunjukkan beberapa keunggulan diantaranya sampel tidak memerlukan preparasi khusus, peralatan elektroda yang sederhana, dan kemampuan mendeteksi insulin kurang dari 10 menit.

Kata Kunci : Sintesis kitosan, Sensor, Insulin



PENGUATAN PROFESI BIDANG
KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA
MELALUI RISET DAN EVALUASI

PENDAHULUAN

Senyawa karbohidrat yang dikonsumsi oleh manusia akan diubah menjadi glukosa. Meningkatnya jumlah karbohidrat yang dikonsumsi akan meningkatkan jumlah glukosa dalam darah. Pada kondisi ini pankreas akan memproduksi hormon insulin untuk mengontrol jumlah glukosa dalam darah. Insulin merupakan suatu hormon polipeptida yang terdiri dari 51 asam amino dan berperan penting bagi kesehatan manusia [1].

Ketidakmampuan insulin dalam mengontrol kadar glukosa dalam darah dapat menyebabkan penyakit diabetes. Ada dua jenis diabetes yang disebabkan oleh gangguan insulin. Ketika pankreas tidak bisa memproduksi insulin disebut diabetes tipe 1. Sedangkan diabetes tipe 2 terjadi ketika pankreas bisa memproduksi insulin, tetapi jumlah insulin yang dihasilkan tidak cukup untuk mengontrol kadar glukosa dalam darah [2]. Oleh karena itu pengukuran insulin menjadi suatu hal yang penting bagi tim medis untuk mengambil keputusan dalam penanganan pasien diabetes.

Metoda umum yang sering digunakan untuk mengukur insulin adalah metoda kromatografi. Metoda Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) sudah sering digunakan untuk mendeteksi insulin. Ada beberapa tahapan preparasi sampel yang dilakukan sebelum sampel dianalisa dengan KCKT. Sampel perlu diekstrak terlebih dahulu dalam larutan diklorometana. Kemudian fase air yang diperoleh diekstrak kembali dalam larutan asam hidroklorida. Preparasi sampel dan proses analisa insulin dengan metoda KCKT membutuhkan waktu lebih dari 1 jam [3]. Waktu yang lama untuk analisa insulin menggunakan

metoda KCKT menjadi suatu kendala bagi tim medis untuk mengambil keputusan yang cepat dalam menangani pasien.

Para peneliti telah membuat dan mengembangkan metoda cepat untuk analisa insulin dengan mengembangkan metoda elektrokimia. Pada metoda elektrokimia sampel dapat dianalisa secara langsung sehingga tidak membutuhkan preparasi sampel. Proses analisa sampel membutuhkan waktu kurang dari 10 menit [4]. Metoda elektrokimia menggunakan elektroda sebagai sensor sudah banyak dikembangkan dan dimodifikasi dengan bahan lain. Hal ini bertujuan untuk meningkatkan sensitivitas dan selektivitas sensor. Beberapa bahan yang dilaporkan pernah digunakan untuk modifikasi elektroda diantaranya adalah nanopartikel dari emas [5-6], seng [7], tembaga [8], dan nikel [9]. Elektroda termodifikasi telah digunakan untuk mengukur sampel medis seperti glukosa [10], asam urat [11], urea [12], dopamin [13] dan insulin [14].

Beberapa penelitian tentang pengukuran insulin menggunakan elektroda termodifikasi sudah dilaporkan. Elektroda silika gel termodifikasi silika karbon. memiliki limit deteksi 36 pM pada pH 7,4 dengan sensitivitas 107,3 pA/pM [15]. Elektroda nanopartikel nikel termodifikasi *carbonnanotube* memberi sensitivitas 1,8 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ dan limit deteksi 6,1 nM [16]. Elektroda nikel nanopartikel dan *glassy carbon* termodifikasi guanin dengan sensitivitas 100,9 pA/pM dan limit deteksi 22 pM pada pH 7,4 [17]

Guanin memiliki gugus fungsi amina (-NH₂) yang memiliki sifat sebagai elektro katalitik yang dapat meningkatkan sensitivitas dan

selektifitas sensor insulin. Bahan lain yang memiliki kemiripan dengan guanin adalah kitosan [18]. Kitosan memiliki gugus amina yang telah diaplikasikan pada berbagai macam sensor diantaranya sensor aseton [19], asam urat [20], ammonia [21], kolesterol [22] dan analisis mutasi DNA [23]. Kitosan dapat diperoleh melalui deasetilasi kitin dari cangkang udang, kepiting, antropoda, dan insekta [18]. Ada beberapa tahapan dalam sintesis kitosan yaitu deproteinasi dengan NaOH 3,5 %, demineralisasi dengan HCl 1 M, dan deasetilasi kitin dengan NaOH 60% [24-25].

Berdasarkan tinjauan tentang insulin, elektroda termodifikasi dan kitosan, maka dalam penelitian ini kami melaporkan sintesis kitosan dari cangkang udang Windu yang diaplikasikan pada sensor insulin.

METODA PENELITIAN

Bahan-bahan:

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian diantaranya silika gel kiesel G.60, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 yang diperoleh dari Merck. Insulin 100 IU/mL diperoleh dari R. Lantus. Kitosan disintesis dari cangkang udang Windu yang diperoleh dari Gersik Jawa Timur. Parafin padat, tabung kaca (diameter 0,5 cm dan panjang 5 cm), kawat perak (diameter 1 mm dan panjang 7 cm) dibeli dari pasar lokal.

Instrumentasi:

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya *water bath*, FTIR, dan potensiostat (eDaQ e-corder 410). Pengukuran elektrokimia menggunakan sistem sel tiga elektroda yaitu platina sebagai elektroda bantu,

Ag/AgCl (KCl 3 M) sebagai elektroda referensi, dan elektroda termodifikasi sebagai elektroda kerja. Semua sifat elektrokimia sensor insulin dianalisa dengan metoda voltametri.

Sintesis kitosan:

Cangkang udang Windu dihaluskan menjadi 100 mesh kemudian dimasukkan ke dalam larutan NaOH 3,5 % lalu dipanaskan pada suhu 65 °C selama 4 jam. Cangkang udang selanjutnya dimasukkan ke dalam larutan HCl 1 M pada suhu dan waktu yang sama. Residu yang diperoleh dimasukkan dalam larutan NaOH 60% dan dipanaskan pada suhu 90 °C selama 4 jam di dalam *water bath*. Kitosan yang diperoleh dianalisis dengan FTIR.

Pembuatan sensor insulin:

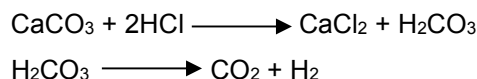
Kitosan hasil sintesis dicampurkan dengan silika gel dengan perbandingan 6:4 lalu diaduk sampai homogen dengan magnetik stirrer. Campuran tersebut dipanaskan pada suhu 65 °C dan diaduk selama 5 menit sebelum ditambahkan 15 % parafin padat dari berat total silika gel dan kitosan. Pengadukan terus dilakukan sampai campuran menjadi homogen. Campuran tersebut diambil 10 mg lalu dimasukkan ke satu sisi tabung kaca sampai menyentuh kawat perak yang ada dalam tabung kaca. Kemudian permukaan elektroda dihaluskan dengan kertas abrasi 2000.

HASIL DAN PEMBAHASAN

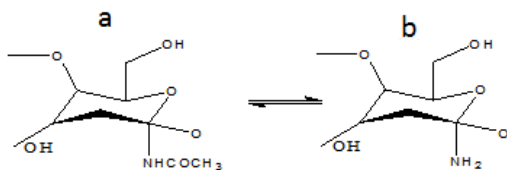
Sintesis kitosan

Deproteinasi merupakan tahapan dalam sintesis kitosan yang bertujuan untuk menghilangkan protein dengan cara dilarutkan

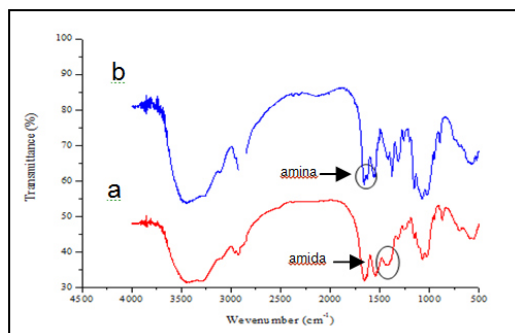
dalam NaOH encer. Setelah diproteisasi cangkang udang dimineralisasi dengan HCl. Mineral yang terkandung dalam cangkang udang seperti kalsium akan dilarutkan dalam HCl. Reaksi kimia yang terjadi pada proses demineralisasi ditunjukkan sebagai berikut.



Setelah tahapan demineralisasi kitin akan diasetilasi dengan penambahan NaOH 60%. Proses deasetilasi kitin bertujuan untuk membuang gugus asetil pada kitin sehingga terbentuk gugus fungsi amina. Jumlah asetil yang hilang dijadikan indikator kemurnian kitosan dengan menghitung derajat deasetilasi (DD) kitosan. Reaksi pada tahapan deasetilasi dapat dilihat pada Gambar 1. Kitosan hasil deasetilasi kitin dianalisa dengan FTIR, spektra yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 2.

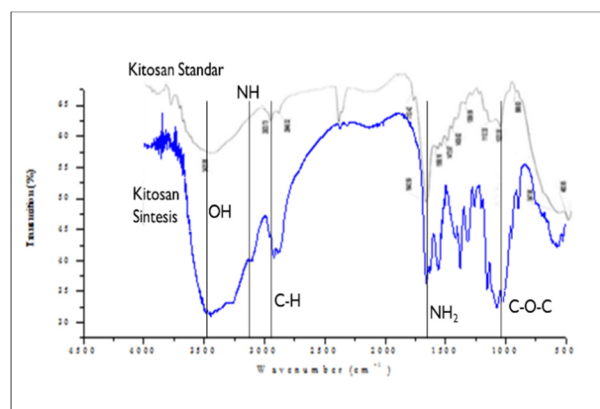


Gambar 1. Reaksi deasetilasi kitin (a) menjadi kitosan (b)



Gambar 2. Spektra FTIR kitin (a), dan kitosan hasil sintesis (b).

Gambar 2 menunjukkan spektra FTIR kitosan hasil sintesis dan kitin. Proses deasetilasi bertujuan melepaskan gugus asetil yang terdapat pada gugus fungsi amida (-NHCOCH₃) sehingga terbentuk gugus fungsi amina (-NH₂). Spektra kitosan hasil sintesis dibandingkan dengan spektra kitosan standar dari Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) seperti yang ditunjukkan oleh Gambar 3.



Gambar 3. Spektra kitosan hasil sintesis (a), dan kitosan standar dari LIPI (b)

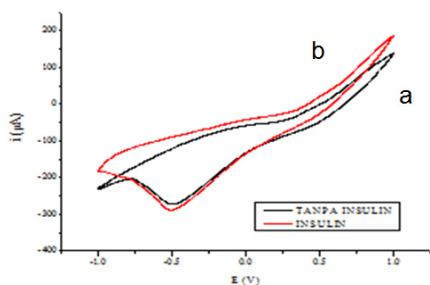
Gambar 3 menunjukkan beberapa gugus fungsi pada kitosan seperti OH, C-H, NH₂, dan C-O-C memiliki panjang gelombang yang mirip dengan kitosan standar yang dibeli dari Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Panjang gelombang dari beberapa gugus fungsi kitosan standar dan kitosan hasil sintesis dapat dilihat pada Tabel 1. Tabel 1 menunjukkan panjang gelombang gugus fungsi kitosan hasil sintesis dan kitosan standar tidak berbeda secara signifikan.

Tabel 1. Perbandingan gugus fungsi kitosan standar dan kitosan hasil sintesis

Gugus Fungsi	Panjang Gelombang (cm ⁻¹)	
	Kitosan standar	Kitosan sintesis
OH	3450.0	3446.4
N-H	3335.0	3265.3
C-H	2891.1	2891.1
NH ₂	1655.0	1639.4
C-O-C	1072.3	1076.3

Aplikasi kitosan pada sensor insulin

Kitosan hasil deasetilasi kitin dari udang Windu diaplikasikan sebagai bahan pendukung pembuatan sensor insulin. Sensor insulin yang dibuat digunakan untuk mengukur 10 μ M insulin dalam larutan buffer fosfat pada pH 7,4. Hasil pengukuran insulin ditunjukkan oleh Gambar 4.



Gambar 4. Siklis voltammogram pengukuran tanpa insulin (a), dan 1,0 μ M insulin (b) pada buffer fosfat pH 7,4

Voltammogram siklis pada Gambar 4 menunjukkan bahwa hasil pengukuran larutan tanpa insulin (a) dan 1,0 μ M insulin (b) terdapat peningkatan arus pada arus puncak katodik (i_{pc}) sebesar 55 μ A. Peningkatan arus tersebut dapat diketahui dengan cara membandingkan antara nilai i_{pc} pada blanko dan nilai i_{pc} pada sampel

insulin. Peningkatan arus menunjukkan bahwa kitosan berperan dalam proses reduksi dan oksidasi insulin pada sensor. Berdasarkan Gambar 4 dapat diketahui nilai i_{pa} dan i_{pc} masing-masing sebesar 55 μ M. Nilai potensial puncak anodik (E_{pa}) sebesar 0,8 V sedangkan nilai potensial puncak katodik (E_{pc}) sebesar -0,5 V

KESIMPULAN

Sintesis kitosan dari cangkang udang Windu berhasil dilakukan dengan derajat deasetilasi 57%. Kitosan dari cangkang Windu dapat diaplikasikan pada sensor insulin. Nilai i_{pa} dan i_{pc} sensor insulin masing-masing sebesar 55 μ M, sedangkan nilai E_{pa} dan E_{pc} berturut-turut sebesar 0,8 V dan -0,5 V. Sensitivitas dan selektifitas sensor insulin ini dapat ditingkatkan dengan menambahkan bahan-bahan elektro katalitik lain ke dalam pasta elektroda.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada DIKTI yang telah memberi bantuan dana beasiswa melalui program Beasiswa Unggulan, dan kepada semua pihak yang telah membantu sehingga penelitian berhasil dilaksanakan.

Daftar Rujukan

- [1] Watson Christopher John, "Insulin Analogues for Insulin Receptor Studies and Medical Applications." University of York Department of Chemistry, Sep-2012.
- [2] S. Joshi and P. Joshi, "A review of insulin and insulin regimens in type 2 diabetes," *South Afr. Fam. Pract.*, vol. 51, no. 2, 2009.

- [3] B. Yilmaz and Y. Kadioglu, "Determination of insulin in rabbit plasma using high-performance liquid chromatography," *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, vol. 18, no. 1, pp. 31–36, 2012.
- [4] P. Businova, J. Prasek, J. Chomoucka, J. Drbohlavova, J. Pekarek, R. Hrdy, and J. Hubalek, "Voltammetric Sensor for Direct Insulin Detection," *Procedia Eng.*, vol. 47, pp. 1235–1238, Jan. 2012.
- [5] F. Kurniawan, "New analytical applications of gold nanoparticles," 09-Feb-2009. [Online]. Available: <http://epub.uni-regensburg.de/12113/>. [Accessed: 25-Mar-2015].
- [6] Y. Zhao, X. Fang, Y. Gu, X. Yan, Z. Kang, X. Zheng, P. Lin, L. Zhao, and Y. Zhang, "Gold nanoparticles coated zinc oxide nanorods as the matrix for enhanced l-lactate sensing," *Colloids Surf. B Biointerfaces*, vol. 126, pp. 476–480, Feb. 2015.
- [7] D. Sebők, E. Csapó, N. Ábrahám, and I. Dékány, "Reflectometric measurement of n-hexane adsorption on ZnO₂ nanohybrid film modified by hydrophobic gold nanoparticles," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 333, pp. 48–53, Apr. 2015.
- [8] J. Zhang, J. Ma, S. Zhang, W. Wang, and Z. Chen, "A highly sensitive nonenzymatic glucose sensor based on CuO nanoparticles decorated carbon spheres," *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 211, pp. 385–391, Mei 2015.
- [9] Z. Liu, Y. Guo, and C. Dong, "A high performance nonenzymatic electrochemical glucose sensor based on polyvinylpyrrolidone–graphene nanosheets–nickel nanoparticles–chitosan nanocomposite," *Talanta*, vol. 137, pp. 87–93, Mei 2015.
- [10] F. Kurniawan, V. Tsakova, and V. M. Mirsky, "Gold nanoparticles in nonenzymatic electrochemical detection of sugars," *Electroanalysis*, vol. 18, no. 19–20, pp. 1937–1942, 2006.
- [11] P. S. Dorraji and F. Jalali, "Novel sensitive electrochemical sensor for simultaneous determination of epinephrine and uric acid by using a nanocomposite of MWCNTs–chitosan and gold nanoparticles attached to thioglycolic acid," *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 200, pp. 251–258, Sep. 2014.
- [12] R. Ahmad, N. Tripathy, and Y.-B. Hahn, "Highly stable urea sensor based on ZnO nanorods directly grown on Ag/glass electrodes," *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 194, pp. 290–295, Apr. 2014.
- [13] F. Kurniawan, V. Tsakova, and V. M. Mirsky, "Analytical Applications of Electrodes Modified by Gold Nanoparticles: Dopamine Detection," *J. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 9, no. 4, pp. 2407–2412, Apr. 2009.
- [14] A. Arvinte, A. C. Westermann, A. M. Sesay, and V. Virtanen, "Electrocatalytic oxidation and determination of insulin at CNT-nickel–cobalt oxide modified electrode," *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 150, no. 2, pp. 756–763, Oct. 2010.
- [15] M. Jaafariasl, E. Shams, and M. K. Amini, "Silica gel modified carbon paste electrode for electrochemical detection of insulin," *Electrochimica Acta*, vol. 56, no. 11, pp. 4390–4395, Apr. 2011.

- [16] B. Rafiee and A. R. Fakhari, "Electrocatalytic oxidation and determination of insulin at nickel oxide nanoparticles-multiwalled carbon nanotube modified screen printed electrode," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 46, pp. 130–135, Aug. 2013.
- [17] A. Salimi, A. Noorbakhash, E. Sharifi, and A. Semnani, "Highly sensitive sensor for picomolar detection of insulin at physiological pH, using GC electrode modified with guanine and electrodeposited nickel oxide nanoparticles," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 24, no. 4, pp. 792–798, Dec. 2008.
- [18] Gavhane Yogeshkumar N., Gurav Atul S, and Yadav Adhikrao V., "Chitosan and Its Applications: A Review of Literature," *Int. J. Res. Pharm. Biomed. Sci.*, vol. 4, no. 1, pp. 312–331, Mar. 2013.
- [19] T. I. Nasution, I. Nainggolan, S. D. Hutagalung, K. R. Ahmad, and Z. A. Ahmad, "The sensing mechanism and detection of low concentration acetone using chitosan-based sensors," *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 177, pp. 522–528, Feb. 2013.
- [20] X. Liu, L. Xie, and H. Li, "Electrochemical biosensor based on reduced graphene oxide and Au nanoparticles entrapped in chitosan/silica sol-gel hybrid membranes for determination of dopamine and uric acid," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 682, pp. 158–163, Aug. 2012.
- [21] N. E. Azmi, M. Ahmad, J. Abdullah, H. Sidek, L. Y. Heng, and N. Karuppiah, "Biosensor based on glutamate dehydrogenase immobilized in chitosan for the determination of ammonium in water samples," *Anal. Biochem.*, vol. 388, no. 1, pp. 28–32, May 2009.
- [22] P. Gomathi, D. Ragupathy, J. H. Choi, J. H. Yeum, S. C. Lee, J. C. Kim, S. H. Lee, and H. D. Ghim, "Fabrication of novel chitosan nanofiber/gold nanoparticles composite towards improved performance for a cholesterol sensor," *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 153, no. 1, pp. 44–49, Mar. 2011.
- [23] S. Alwarappan, K. Cissell, S. Dixit, C.-Z. Li, and S. Mohapatra, "Chitosan-modified graphene electrodes for DNA mutation analysis," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 686, pp. 69–72, Oct. 2012.
- [24] T. Kusumaningsih, A. Masykur, and U. Arief, "Synthesis of chitosan from chitin of escargot (*Achatina fulica*)." *Biofarmasi* 2, 2004.
- [25] M. Kurniasih and D. Kartika, "Synthesis and Physicochemical Characterization of Chitosan." *Jurnal Inovasi*, Jan-2011.

TANYA JAWAB**PENANYA : Ika Sri Suwanti****Pertanyaan :**

- a) Apa itu derajat destilasi?

Jawaban :

- a) Yaitu menyatakan seberapa banyak asetil itu lepas, semakin tinggi derajat destilasi maka semakin tinggi pula asetil yang lepas.