

08

LAPORAN PENELITIAN TAHAP II  
PENELITIAN FUNDAMENTAL



UJI AGENT ANTI KOLESTEROL CHITOSAN  
DARI KULIT KEPITING DENGAN CARA  
BIODEGRADASI ENZIMATIK

Oleh:

Dra. Martina Restuati, M.Si  
Dra. Riwayati, M.Si

Dibiayai Oleh

Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan Nasional  
Sesuai Dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penelitian

Nomor : 02024/UN33.17/SPMK/2011

Tanggal 21 Maret 2011

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS NEGERI MEDAN

November, 2011



## RINGKASAN

### UJI AGENT ANTI KOLESTEROL CHITOSAN DARI KULIT KEPITING DENGAN CARA BIODEGRADASI ENZIMATIK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui, mengisolasi dan mendapatkan senyawa bioaktif N-asetilglukosamin chitosan dari limbah kulit kepiting dengan cara biodegradasi secara enzimatik, dan pemanfaatannya sebagai agent anti kolesterol. Hasil yang diharapkan dari penelitian ini adalah data senyawa chitosan berupa N-asetilglukosamin dari kulit kepiting dan untuk memperoleh data tentang pemanfaatannya sebagai agent anti kolesterol.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi optimum waktu inkubasi chitosan diperoleh 20 jam, kondisi optimum konsentrasi substrat enzim pada 30 mg/ml larutan enzim. Kadar air 2,9 persen dan kadar abu 1,9 persen. Pemberian chitosan kulit kepiting dapat menurunkan kolesterol khususnya trigliserida, pada kontrol, kadar trigliserida darah mencit sebesar 56,6 mg/dl, setelah diberikan kuning telur kadar trigliserida menjadi 66,4 mg/dl (naik 14,45%). Sedangkan pada perlakuan chitosan kulit kepiting, kadar trigliserida sebelum perlakuan adalah 56,6 mg/dl, setelah diberikan kuning telur kadar trigliserida menjadi 67,2 mg/dl (naik 15,77%). Setelah diberikan chitosan kulit kepiting kadar trigliserida menurun menjadi 54,1 mg/dl (turun 19,49%).

Untuk aplikasi chitosan kulit kepiting secara biodegradasi enzimatik dalam mereduksi kolesterol lemak kambing adalah berbeda sangat nyata. Dari analisis sidik ragam dapat dilihat bahwa perlakuan dengan menggunakan chitosan kulit kepiting secara enzimatik sangat berpengaruh terhadap penurunan kadar kolesterol lemak kambing, pada perlakuan X3 (Konsentrasi 7gram) adalah penyerapan kolesterol tertinggi yaitu 50,36 persen dan penyerapan terendah pada X1 (kontrol) yaitu 18,58 persen.

## Kata Pengantar

Syukur Alhamdulillah kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan rahmat dan petunjuk Nya, sehingga laporan penelitian ini dapat diselesaikan tepat pada waktunya. Laporan penelitian ini merupakan hasil penelitian berupa Uji Agent Anti Kolesterol Chitosan Dari Kulit Kepiting Dengan Cara Biodegradasi Enzimatik.

Pada kesempatan ini peneliti menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar – besarnya kepada :

1. Pimpinan FMIPA Unimed yang telah memberikan izin pelaksanaan penelitian.
2. Pimpinan Unimed yang telah memberikan kesempatan melaksanakan penelitian.
3. Pimpinan dan staf proyek peningkatan penelitian pendidikan tinggi dirjen dikti Kementerian Pendidikan Nasional Jakarta yang telah menyediakan dana penelitian ini.
4. Semua pihak yang telah banyak membantu tim peneliti mulai dari awal sampai selesainya penelitian ini sesuai dengan kontrak yang ditetapkan.

Semoga Tuhan Yang Maha Kuasa melimpahkan rahmat dan karunia Nya atas kebaikan dan kemurahan semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

Peneliti juga menyadari dalam tulisan ini masih terdapat kekurangan, untuk itu saran dan kritik dari berbagai pihak dapat diterima dengan senang hati demi perbaikan penelitian di masa yang akan datang.

Akhirnya peneliti berharap, semoga laporan ini dapat bermanfaat kepada pihak yang menggunakannya.

Medan, November 2011

Peneliti

Dra. Martina Restuati, M.Si  
NIP. 19630321 198803 2 002

## DAFTAR ISI

<b>DAFTAR ISI</b>	
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b>	
<b>RINGKASAN</b>	
<b>KATA PENGANTAR</b>	
<b>DAFTAR GAMBAR</b>	
<b>DAFTAR TABEL</b>	
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	<b>1</b>
a. Latar Belakang	1
<b>BAB II STUDI PUSTAKA</b>	
A. Limbah Kulit Kepiting Sebagai Bahan Dasar Chitosan	4
B. Kitin dan Chitosan	4
C. Enzim Lisozim	6
D. Chitosan Sebagai Agent Anti Kolesterol	8
<b>BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN</b>	
A. Tujuan	9
B. Manfaat Penelitian	9
<b>BAB IV METODE PENELITIAN</b>	<b>11</b>
a. Lokasi dan Waktu Penelitian	11
b. Teknik Pengambilan Sampel	11
c. Pembuatan Chitosan Dengan Cara Degradasi Enzimatik Dan Pemanfaatan Chitosan Sebagai Agent Anti Kolesterol	11
d. Pengolahan dan Analisis Data	14
1. Penentuan Kondisi Optimum Chitosan	15
2. Pemanfaatan Chitosan Sebagai Agent Anti Kolesterol	15

## **BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN**

17

### **1. Karakterisasi Chitosan**

17

#### **a. Waktu Inkubasi**

17

#### **b. Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum**

17

#### **c. Kadar Air**

17

#### **d. Kadar Abu**

18

#### **e. Spektroskopi**

19

### **2. Chitosan Sebagai Agent Anti Kolesterol**

21

#### **a. Pemeriksaan Kadar Gliserida Darah Mencit**

22

#### **b. Uji Agent Anti Kolesterol Chitosan terhadap Lemak Kambing**

35

## **BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN**

41

### **a. Kesimpulan**

41

### **b. Saran**

41

## **DAFTAR PUSTAKA**

42

## DAFTAR GAMBAR

### Gambar

			<i>Halaman</i>
1	Struktur N-asetilglukosamin		7
2	Skema Pembuatan Kitin secara Kimia		13
3	Skema Pembuatan N-asetilglukosamin secara Enzimatik		13
4	Spektra IR Chitosan Kulit Kepiting		19
6	Kulit Kepiting		20
7	Chitosan Kulit Kepiting		20

## DAFTAR TABEL

### Halaman

Tabel 4.1. Kadar Triglicerida Darah Mencit Sebelum Diberi Perlakuan	21
Tabel 4.2. Tabel Uji t (Uji-Test) Kadar Triglicerida Darah Mencit Sebelum Perlakuan	24
Tabel 4.3. Kadar Triglicerida Darah Mencit Setelah Pemberian Kuning Telur	25
Tabel 4.4. Tabel Uji t (Uji-Test) Kadar Triglicerida Darah Mencit Setelah Pemberian Kuning Telur	27
Tabel 4.5. Kadar Triglicerida Setelah Pemberian Chitosan Kulit Kepiting	28
Tabel 4.6. Tabel Uji t (Uji-Test) Setelah Pemberian Chitosan Kepiting	30
Tabel 4.7. Tabel Kandungan Kulit Kepiting	33
Tabel 4.8. Kadar Kolesterol Lemak Kambing Yang Diberi Chitosan Kulit Kepiting secara Biodegradasi Enzimatik	35
Tabel 4.9. Pesentase (%) Daya Serap Chitosan Kulit Kepiting secara Biodegradasi Enzimatik	36
Tabel 4.10. Daftar Sidik Ragam (ANOVA) persentase (%) Daya Serap Chitosan Kulit Kepiting secara Biodegradasi Enzimatik	36
Tabel 4.11. Uji Beda Nyata Terkecil untuk persentase (%) Daya Serap Chitosan Kulit kepiting secara Biodegradasi Enzimatik	37



## BAB I PENDAHULUAN

### a. Latar Belakang

Pengembangan bidang kimia organik bahan alam dan potensinya dalam mengembangkan senyawa kimia dan bioaktivitas bidang farmakologi masih sangat dibutuhkan. Chitosan merupakan turunan dari kitin dimana kitin banyak ditemukan pada arthropoda yang krustaceae (memiliki kerangka luar) seperti kepiting dan lobster. Kitin yang terdapat pada kulit atau cangkang ini masih terikat, dengan mengalami deasetilasi berubah menjadi chitosan yang mampu mengikat kolesterol. Chitosan adalah polimer dengan monomernya adalah heksosa yang memiliki radikal - radikal seperti  $\text{NH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{CH}_3$  bila dipanaskan akan mengalami dekomposisi tanpa memperlihatkan titik didih. Produksi kepiting yang diekspor pada tahun 2007 sebanyak 22.726 ton dalam bentuk tanpa kepala dan kulit, sedangkan yang dikonsumsi dalam negeri diperkirakan jauh lebih banyak. Dengan demikian jumlah hasil samping produksi yang berupa kepala, kulit, ekor maupun kaki rajungan yang umumnya 25-50% dari berat, sangat berlimpah. Hasil samping ini, di Indonesia belum banyak digunakan sehingga hanya menjadi limbah yang mengganggu lingkungan, terutama pengaruh pada bau yang tidak sedap. (Sopiah, 2002).

Pemanfaatan kepiting umumnya baru terbatas untuk keperluan makanan, biasanya hanya dagingnya saja yang diambil sedangkan cangkangnya dibuang dan merupakan limbah pengalangan kepiting yang belum diolah secara maksimal, padahal cangkang kepiting mengandung senyawa chitin yang cukup tinggi. Penggunaan chitin dibatasi oleh sifat-sifat yang tidak larut dan sulit dipisahkan dengan bahan lain terikat terutama dengan protein, sehingga untuk pemanfaatannya chitin perlu diubah terlebih dahulu menjadi chitosan (Marganof, 2003).

Selain itu limbah kepiting selama ini di Indonesia hanya dimanfaatkan untuk pakan ternak, hidrolisat protein, silase, dan lain-lainnya, sementara, limbah kepiting dinegara maju seperti Jepang dan Amerika Serikat telah di isolasi chitinnya. Chitin dalam cangkang kepiting sebesar 15-20 % dan dapat di isolasi melalui proses demineralisasi. Chitin juga dapat di ubah menjadi chitosan setelah lebih dari 70 % gugus asetil ( $\text{CH}_3\text{CO}-$ ) nya dihilangkan. Kitin yang

diubah menjadi chitosan dapat membantu untuk menurunkan kadar kolesterol pada tubuh manusia (Batchelor, 2004).

Selain itu manfaat chitin dan chitosan di berbagai bidang industri modern cukup banyak, diantaranya dalam industri farmasi, biokimia, bioteknologi, biomedikal, pangan, gizi, kertas, tekstil, pertanian, kosmetik, membran dan kesehatan. Disamping itu, chitin dan chitosan serta turunannya mempunyai sifat sebagai bahan pengemulsi koagulasi dan penebal emulsi (Marganof, 2003).

Meski kolesterol sangat penting bagi tubuh, tapi kolesterol dalam jumlah berlebihan sangat berbahaya. Bila kadar kolesterol di dalam darah tinggi, maka kolesterol dan komponen lemak yang lain akan cenderung menumpuk pada dinding pembuluh darah. Dengan bertambahnya waktu dan jika kondisi ini dibiarkan, maka tumpukan ini akan menghambat bahkan menyumbat aliran darah menuju jantung. Makin tinggi kadar kolesterol darah, makin besar pula resiko terkena penyakit jantung. Kolesterol dalam darah berasal dari dua sumber yaitu dari tubuh, terutama dibuat oleh hati dan dari makanan yang mengandung kolesterol. Penyakit Jantung Koroner (PJK) berkembang sebagai akibat interaksi berbagai faktor resiko. Namun, dari semua faktor yang berkaitan dengan aterosklerosis atau penyakit jantung, profil lipid darah (kolesterol dan/atau trigliserida) adalah faktor utama timbulnya penyakit jantung koroner.

Penelitian tentang senyawa bioaktif berupa chitosan yang terdapat dalam tubuh hewan krustacea yang banyak terdapat di Sumatera Utara sangat perlu dikembangkan. Kegiatan dilakukan dalam rangka peningkatan kesehatan masyarakat yang sumber dayanya berasal dari limbah perikanan mudah di dapat dan bila limbah tidak dimanfaatkan akan mengganggu kesehatan lingkungan. Pengeksportan kepiting dilakukan dalam keadaan hasil setengah olahan, yaitu berupa daging kepiting yang dikalengkan. Sebelum dikalengkan, kepiting terlebih dahulu dibersihkan dari cangkangnya sehingga dihasilkan berton-ton limbah kulit kepiting setiap bulannya. Limbah ini belum banyak diolah lebih lanjut. Padahal menurut Bough (1975), limbah hasil pengolahan kepiting dan kepiting mengandung senyawa kitin sebesar 20-30% pada berat keringnya. Dengan demikian pemanfaatan limbah kulit kepiting untuk berbagai keperluan perlu dilakukan sebagai upaya menjaga lingkungan dan hal ini memberi kontribusi pada bidang kesehatan dan lingkungan. Kitin terdapat di alam sebagai komponen struktural dari kerangka luar invertebrata dan krustasea, juga dinding sel ragi dan jamur.

Dimana jumlah relatifnya adalah antara 30-60%. Berdasarkan penelitian terakhir, sumber kitin dalam organisme lautan berkisar antara  $10^6 - 10^7$  ton (Yu et al,1991).

Pemanfaatan senyawa kitin dibatasi oleh sifatnya yang tidak larut dan sulit dipisahkan dengan bahan lain yang terikat, sehingga untuk pemanfaatan lebih lanjut, kitin harus diubah terlebih dahulu menjadi turunannya yaitu N-asetilglukosamin, yang merupakan unit penyusun kitin, agar dapat digunakan dalam bidang farmasi yaitu sebagai bahan baku farmasi, bioteknologi dan kosmetika.

Dari latar belakang diatas maka perlu dilakukan penelitian tentang bagaimana aktifitas chitosan sebagai agent kolesterol.



## BAB II

### STUDI PUSTAKA

#### A. Limbah Kulit Kepiting Sebagai Bahan Dasar Chitosan

Kepiting merupakan hasil perikanan yang memiliki potensi sebagai komoditas ekspor yang banyak diminati karena selain memiliki nilai gizi yang tinggi juga memiliki cita rasa yang lezat. Hal ini terbukti dengan banyaknya restaurant atau rumah makan yang menyediakan berbagai jenis makanan dari bahan kepiting (Moelyanto, 1979).

Produksi perikanan di Sumatera Utara pada tahun 2003 adalah 381.064 ton dengan produsen terbesar adalah Asahan sebesar 75.468 ton. Medan merupakan produsen terbesar kedua yaitu sebesar 56.386 ton (Dinas Perikanan, 2003). Jumlah genus kepiting (Crabs) yang tergolong famili portunidae di perairan Indonesia mencapai 100 genus. Portunidae adalah salah satu famili kepiting yang memiliki Pasangan kaki jalan dan kaki kelimanya berbentuk pipih dan melebar pada ruas yang terakhir (distal). Famili portunidae sebagian besar hidup di laut, perairan bakau, atau perairan payau (Soim, 1994). Famili Portunidae mempunyai beberapa spesies, jenis yang paling banyak ditemukan adalah rajungan (*Portunus pelagicus*) dan kepiting bakau (*Scylla serrata*).

Menurut Moelyanto (1979) kepiting sejak ditangkap sampai dimasak kesegarannya hanya beberapa jam saja. Tetapi bila kepiting tersebut dibekukan maka daya tahan kesegarannya dapat mencapai beberapa bulan. Dengan semakin berkembangnya usaha pembekuan kepiting untuk memenuhi permintaan pasar terutama sebagai komoditas ekspor maka akan terdapat cukup banyak limbah yang terbuang. Kepiting diekspor 2-4 ton perhari menghasilkan limbah kepiting sebanyak 50 - 120 kg. Ini berarti limbah kepiting yang dihasilkan mencapai 2,5-3 % dari total produksi kepiting beku sehari (Dinas Perikanan, 2003).

#### B. Kitin dan Chitosan

Chitosan merupakan turunan dari kitin dimana kitin banyak ditemukan pada arthropoda yang krustaceae (memiliki kerangka luar) seperti kepiting, kepiting dan lobster. Kitin yang terdapat

pada kulit atau cangkang ini masih terikat, dengan mengalami deasetilasi berubah menjadi chitosan yang mampu mengikat kolesterol dan dapat dimanfaatkan sebagai pengawet dan berbagai bentuk pemanfaatan lain. . Chitosan adalah polimer dengan monomernya adalah heksosa yang memiliki radikal – radikal seperti  $\text{NH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{CH}_3$  bila dipanaskan akan mengalami dekomposisi tanpa memperlihatkan titik didih (Wahyuni, 2003).

Chitosan merupakan produk turunan dari *polimer chitin*, yakni produk samping (limbah) dari pengolahan industri perikanan, khususnya kepiting dan rajungan. Limbah kepala kepiting mencapai 35-5 persen dari total berat kepiting. Kadar chitin dalam berat kepiting berkisar antara 60-70 persen dan bila diproses menjadi chitosan menghasilkan bubur 15-20 persen. Menurut Hawab (2001) kulit kepiting mengandung chitosan yang dapat mengikat kolesterol. Setiap 50 mg serbuk chitosan yang dicampur dengan 10 mg kolesterol dapat mengikat 18 % kolesterol. Daya ikat ini bisa ditingkatkan jika rasio chitosan juga ditingkatkan.

Proses utama dalam pembuatan chitosan meliputi penghilangan protein dan kandungan mineral melalui proses kimiawi yang disebut *deproteinasi* dan *demineralisasi* yang masing – masing dilakukan dengan menggunakan larutan basa dan asam. Selanjutnya, chitosan diperoleh melalui proses *deasetilasi* dengan cara memanaskan dalam larutan basa. N-Asetilglukosamin

Penambahan enzim lisozim pada kitin dapat menghidrolisis ikatan  $\beta$  (1,4) pada senyawa kitin menjadi unit-unit penyusunnya yaitu N-Asetilglukosamin. Rumus struktur dari N-asetilglukosamin adalah  $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NO}_6$ . N-asetilglukosamin sangat berguna dalam bidang farmasi yaitu sebagai bahan baku pembuatan antibiotika dan penurunan kolesterol. Berat molekul yang dimilikinya adalah 221,21 J/mol dan suhu yang digunakan untuk penyimpanan senyawa ini agar tetap dalam kondisi yang baik adalah dari 2 – 8 °C. Adapun sifat-sifat dari N-asetilglukosamin adalah mudah larut dalam air, sedikit larut dalam methanol yang dipanaskan, dan tidak larut dalam dietil eter.

Menurut Linawati Hardjito Ketua Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB, chitosan dibuat dengan merebus limbah kepiting yang telah dibersihkan. Limbah tersebut direbus kurang lebih satu jam untuk menghilangkan sisa protein.

Derajat keasaman (pH) pada perebusan tahap ini diusahakan diatas 10, dengan menambahkan larutan soda api (NaOH). Hasilnya kemudian direbus lagi selama 2 jam, dengan ditambahi larutan asam klorida (HCl) agar pH turun dibawah 5. Campuran ini sekali lagi direbus selam 2 jam dengan larutan basa untuk menghilangkan unsur asetil. Pada tahap ini cangkang kepiting rajungan dan kulit kepiting sudah berubah menjadi bubur bewarna putih. Adonan ini dibersihkan dengan memasukkannya ke dalam saringan, lalu dialiri air. Sisanya berupa cairan kental dipakai sebagai pengawet (Indra, Pinem, Sawariyanto, 2006).

Karakteristik fisiko-kimia chitosan dapat berupa cairan namun bisa pula dijadikan bubuk bewarna putih dan berbentuk kristal, dapat larut dalam larutan asam organic yang disebut dengan simplisia kulit kepiting . Pelarut chitosan yang baik adalah asam asetat (cuka). Chitosan sedikit mudah larut dalam air dan mempunyai muatan positif yang kuat yang dapat mengikat muatan negattif senyawa lain, serta mudah mengalami degradasi secara biologis dan tidak beracun (Anonim 2006).

### C. Enzim Lisozim

Sistem enzim yang membantu degradasi kitin dialam meliputi beberapa jenis yaitu kitinase, kitin deasetilase, chitosanase, dan lisozim. Msing-masing enzim memiliki fungsi yang berbeda dalam proses degradasi kitin. Kitinase berfungsi memecah kitin menjadi oligomer-oligomernya, sedangkan kitin deasetilase berfungsi mendeasetilasi kitin menjadi chitosan. Chitosanase berfungsi memecah chitosan menjadi oligomer-oligomernya dan lisozim berfungsi memecah ikatan antara GlcNAc dan N-asetil muramat pada dinding sel jamur (Schomburg dan Salzmman, 1991).

Lisozim merupakan enzim yang berukuran relatif kecil, yaitu terdiri dari 129 asam amino dan mempunyai berat molekul 14.600, mempunyai residu terminal aminolisin dan residu terminal karboksil leusin. Bagian dalam enzim bersifat polar, sehingga dapat larut dalam air (Winamo, 1995).

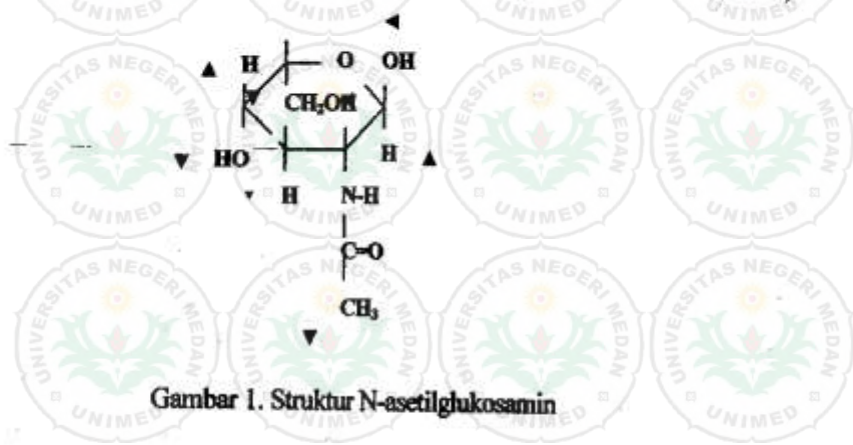
Lisozim adalah enzim yang menghidrolisis ikatan antara N-asetilglukosamin dan N-asetilmuramat peptidoglikan pada dinding sel bakteri, hidrolisis ini dapat menyebabkan dinding sel pecah dan biasanya diikuti oleh lisis sel (Volk, 1990).

Enzim lisozim menghidrolisis polisakarida dalam dinding sel bakteri. Secara alami enzim lisozim terdapat dalam beberapa hasil sekresi binatang, seperti air mata dan susu. Enzim tersebut paling mudah ditemukan dalam putih telur (Muchtadi dkk, 1992). Lisozim dinamakan demikian karena dapat melarutkan dinding sel bakteri, dan karenanya berfungsi sebagai agen bakterisidal (Lehninger, 1993).

Suhu optimum lisozim putih telur adalah  $55^{\circ}\text{C}$  dan pH optimum adalah 6,2. Keadaan optimum adalah keadaan dimana enzim menunjukkan aktifitasnya yang tertinggi (Tata, et. al., dalam Sufiati, 1996) Tiap enzim mempunyai sisi katalitik yang mengikat substrat, yaitu molekul yang menjadi objek kerja enzim. Polisakarida bakteri merupakan substrat lisozim, yang mengisi dengan tepat celah katalitik ini, selama aksi katalitik enzim (Lehninger, 1993).

#### N-Asetilglukosamin (GlcNAc)

GlcNAc merupakan monomer atau satuan unit penyusun kitin. Senyawa dengan berat molekul 221,21 g/mol ini, terbentuk dari hidrolisis kitin dengan enzim lisozim atau *chitinase*. N-asetilglukosamin mempunyai titik leleh  $205^{\circ}\text{C}$ , mudah larut dalam air, sedikit larut dalam methanol panas dan etanol, dan tidak larut dalam dietil eter (The Merck Index, 1996).



Gambar 1. Struktur N-asetilglukosamin

#### Pemanfaatan Kitin dan N-Asetilglukosamin

Pemanfaatan kitin dibatasi oleh sifat-sifatnya yang tidak larut dan sulit dipisahkan dengan bahan lain yang terikat terutama protein, sehingga untuk pemanfaatannya kitin perlu diubah terlebih dahulu menjadi salah satu turunannya, seperti N-asetilglukosamin. Kitin sendiri dapat

dibuat menjadi lembaran tipis, seperti plastik, untuk menutupi kulit yang terkena luka bakar, dan sebagai benang untuk menjahit luka operasi. Ada juga percobaan yang memanfaatkan lembaran film kitin sebagai tempat penyimpanan darah. Sedangkan senyawa N-asetilglukosamin banyak digunakan dalam bidang farmasi, yaitu sebagai salah satu bahan baku pembuatan antibiotika.

#### D. Chitosan Sebagai Agent Anti Kolesterol

Chitosan dapat mengurangi kadar kolesterol dengan cara yaitu :

Jika chitosan terkena asam lambung (HCl), senyawa tersebut akan berubah menjadi semacam gel yang dapat membungkus bukan saja molekul kolesterol dalam getah empedu tapi juga molekul lemak dalam makanan. Kolesterol dan lemak yang terbungkus secara otomatis akan terbuang bersama sistem eliminasi dan ekskresi tubuh, maka dari itu chitosan dapat dianggap sebagai obat pelangsing dan relatif aman karena ini adalah bahan alami mekanismenya tidak dipengaruhi sistem tubuh secara menyeluruh (Anonim, 2006). Chitosan memiliki kelebihan dimana chitosan dapat melekat pada lemak. Chitosan dapat melekat pada lemak, kolesterol dan trigliserida dan asam empedu yang mengandung zat-zat buruk. Chitosan mempunyai gugus bermuatan positif yang mengikat muatan negatif dalam kolesterol dan asam-asam lemak jenuh. Ikatan yang terbentuk tidak dapat dicerna dan diserap oleh usus halus disebabkan sifat chitosan itu sama dengan serat, sehingga lemak-lemak dari makanan ditepis dan dikeluarkan dari badan (tidak diserap ke dalam badan (Hawab, 2001).

Chitosan memiliki beberapa manfaat bagi tubuh yakni :

- a. Chitosan dapat mengurangi lemak-lemak dari makanan
- b. Chitosan dapat menurunkan LDL (Low Density Lipoprotein) dan meningkatkan HDL (High Density Lipoprotein) di dalam serum darah.
- c. Chitosan mampu menurunkan tingkat kolesterol dalam serum darah dengan efektif dan tanpa menimbulkan efek samping.
- d. Chitosan dapat melawan asam berlebihan yang dikeluarkan dalam perut/usus.

Dalam suatu pengujian uji klinik diberitahukan bahwa kadar kolesterol berkurang hingga 32%, setelah menggunakan chitosan selama 5 minggu. Selain itu, konsentrasi kolesterol HDL meningkat 7,5% sementara kandungan trigliserida berkurang hingga 18% (Anonim, 2007)



### BAB III

#### TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

##### a. Tujuan

Yang menjadi tujuan dalam penelitian ini adalah untuk memperoleh data empiris tentang :

- a. Karakterisasi chitosan kulit kepiting yang diperoleh secara biodegradasi enzimatik
- b. Pemanfaatan chitosan kulit kepiting hasil biodegradasi enzimatik sebagai agent anti kolesterol

##### b. Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini luaran yang diharapkan adalah :

- a. Informasi pembuatan Chitosan berupa senyawa N-glukosamin yang diperoleh secara biodegradasi enzimatik yang dapat dijadikan masukan bagi ahli farmasi untuk dapat memanfaatkan dan mengembangkannya sebagai obat anti kolesterol .
- b. Sebagai informasi yang dapat dimanfaatkan dalam memanfaatkan N-glukosamine yang berperan sebagai agent anti kolesterol.
- c. Menambah diversifikasi produk obat-obatan berkhasiat pencegah kolesterol khas Indonesia dan berfungsi sebagai media bagi peneliti lanjutan pada bidang gizi, kesehatan dan ilmu terapan lainnya.

## BAB IV METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap yaitu **Tahap I** Pembuatan Chitosan dengan Cara Biodegradasi Enzimatik dan Pengujian Aktifitasnya sebagai anti kolesterol khususnya trigliserida dan pengaruhnya terhadap Lemak Kambing yang telah dilakukan Mulai Maret 2010 sampai Nopember 2010, selanjutnya **Tahap II** Pemanfaatan chitosan yang dibuat secara biodegradasi enzimatik dan pengaruhnya terhadap kadar LDL dan LDL serta daya reduksi chitosan terhadap Lemak Hewan.

Lokasi penelitian laboratorium Biokimia jurusan Biologi FMIPA Unimed dan

Waktu penelitian direncanakan berlangsung dalam 2 tahap yaitu tahap I, pembuatan chitosan dengan cara degradasi enzimatik mulai Maret 2010 sampai November 2011 dan tahap II pemanfaatan chitosan sebagai agent anti kolesterol Maret 2011 sampai dengan November 2011.

Pengambilan Sampel kulit kepiting dilakukan dengan mengambil semua bagian kulit kepiting yang berasal dari industri pembekuan kepiting di daerah pelabuhan Belawan

### 1. Pembuatan Chitosan Dengan Cara Degradasi Enzimatik

#### Isolasi Kitin

Proses isolasi kitin dilakukan melalui tiga tahap yaitu : deproteinasi yaitu pemisahan protein dari kitin, demineralisasi yaitu tahap pemisahan mineral, dan depigmentasi yaitu tahap pemutihan hasil.

#### 1. *Deproteinasi*

Sebanyak 150 g sampel ditempatkan dalam satu bejana tahan asam basa yang dilengkapi dengan pengaduk, termometer, penangas air bertermostat. Kemudian ditambahkan 1,5 liter NaOH 3,5%. Dibiarkan selama 2 jam pada suhu 65°C. Dilakukan pemisahan antara residu dan filtrat hasil penyaringan. Filtrat diuji dengan CuSO<sub>4</sub>. Residunya dicuci dengan aquades hingga pH netral, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C selama 4 jam. Diperoleh kitin kasar yang berwarna kuning kemerahan.

## 2. *Demineralsasi*

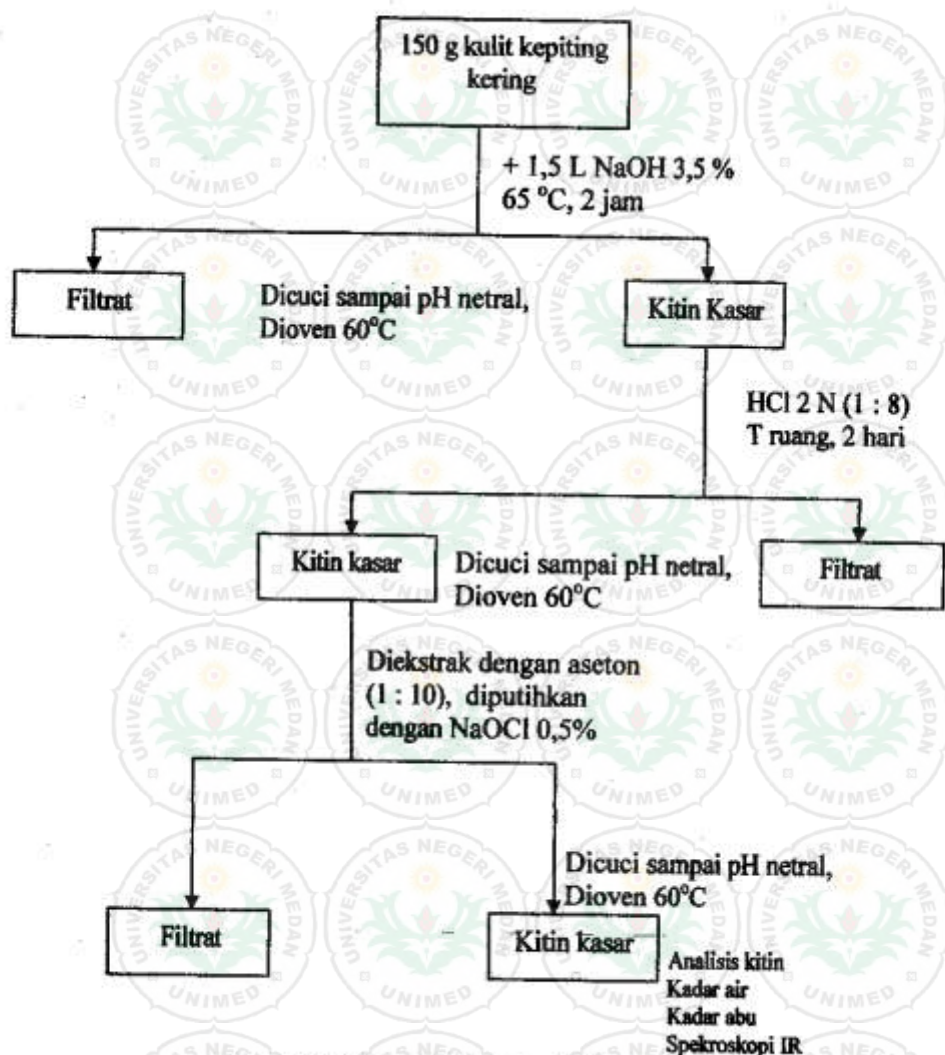
Kitin kasar hasil pemisahan protein ditempatkan dalam suatu bejana tahan asam basa yang dilengkapi dengan pengaduk, termometer, dan penangas air bertermostat. Kemudian ditambahkan HCl 2 N dengan perbandingan 1 : 8 (w/v) selama 48 jam. Proses ini dilakukan pada suhu kamar, lalu dilakukan penyaringan dan pemisahan residu dan filtrat. Kemudian filtrat diuji dengan amonium oksalat. Residunya dicuci dengan aquades sampai pH netral dan dikeringkan dalam oven pada suhu 60 °C. Diperoleh kitin kasar berwarna kuning kemerahan.

## 3. *Deasetilasi dan Depigmentasi*

Kitin kasar hasil demineralisasi diekstraksi dengan aseton dengan perbandingan 1 : 10 (w/v) secara soxhletasi. Residunya diputihkan dengan NaOCl 0,5% selama 10 menit pada suhu kamar, kemudian residunya dicuci dengan aquades sampai pH netral, dan dikeringkan dalam oven pada suhu 60 °C. Diperoleh kitin berupa serbuk agak halus berwarna putih.



### Diagram Kerja Pembuatan Kitin secara Kimia

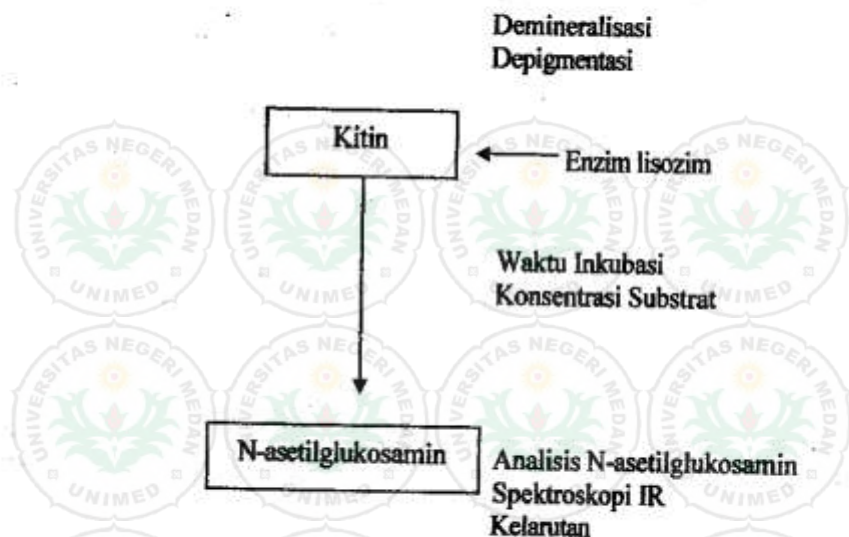


Gambar 2. Skema Pembuatan Kitin secara Kimia

### Diagram Kerja Pembuatan Chitosan berupa N-asetilglukosamin secara Enzimatis



Deproteinasi



Gambar 3. Skema Pembuatan N-asetilglukosamin secara Enzimatik

## 2. Pengolahan dan Analisis Data

### Karakterisasi Kitin

#### 1. Analisis Kadar Air Secara Gravimetri

Dilakukan penimbangan terhadap botol timbang yang hendak dipakai, kemudian dimasukkan kitin hasil isolasi dari kulit kepiting dengan berat tertentu. Dikeringkan dalam oven pada suhu  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  sampai beratnya tetap (kurang lebih selama 3 jam), kemudian didinginkan dalam desikator, ditimbang dan dihitung.

#### 2. Analisis kadar abu secara gravimetric

Cawan pengabuan disiapkan untuk pengabuan. Cawan ditimbang, kemudian dibakar dalam tanur, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Dimasukkan sejumlah kitin yang telah ditimbang ke dalam cawan tersebut, kemudian dibakar di dalam tanur pengabuan sampai didapat abu berwarna putih. Pengabuan ini dilakukan pada suhu  $600\text{-}700\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama 6 jam selanjutnya dilakukan penghitungan.

#### 3. Pengukuran Spektroskopi IR

Kitin yang diperoleh diukur dengan spektroskopi IR. Kitin dibuat pelet dengan KBr, kemudian dilakukan scanning pada daerah frekuensi antara  $4000\text{ cm}^{-1}$  sampai dengan  $400\text{ cm}^{-1}$ .

<sup>1</sup>. Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan pengukuran kitin standar.

## Penentuan Kondisi Optimum

### 1. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum

Sampel kitin hasil isolasi dari kulit kepiting diambil sebanyak 10 mg. Lalu ditambahkan 2 ml buffer glisin-NaOH 0,1 M dengan pH 6,2 dan 1 ml enzim lisozim. Campuran diinkubasi dalam incubator selama 4, 8, 12, 16, 20, 24 dan 48 jam dengan suhu 55 °C. Setelah itu diletakkan ke dalam waterbath selama 45 menit dengan suhu 70 °C. Lalu dilarutkan masing-masing kedalam air dan HCl 0,1 N sampai jenuh. Campuran disentrifugasi selama 5 menit dan disaring. Filtrat dikeringkan dengan menggunakan *freeze dried* dan setelah kering hasilnya ditimbang.

### 2. Penentuan Konsentrasi Substrat

Sampel kitin hasil isolasi dari kulit kepiting diambil sebanyak 10, 20, 30, 40 dan 50 mg. Masing-masing sample ditambahkan 2 ml buffer glisin-NaOH 0,1 M dengan pH 6,2 dan 1 ml enzim lisozim. Campuran diinkubasi dalam incubator pada waktu inkubasi optimum enzim dengan suhu 55 °C. Setelah itu diletakkan ke dalam waterbath selama 45 menit dengan suhu 70 °C. Lalu dilarutkan masing-masing kedalam air dan HCl 0,1 N sampai jenuh. Campuran disentrifugasi selama 5 menit dan disaring. Filtrat dikeringkan dengan menggunakan *freeze dried* dan setelah kering hasilnya ditimbang.

## Karakterisasi N-Asetilglukosamin

### 1. Pengukuran Spektroskopi IR

N-Asetilglukosamin yang dihasilkan dari variasi komposisi kitin terbaik diukur dengan spektroskopi IR. N-Asetilglukosamin dibuat pellet dengan KBr, kemudian discanning pada daerah frekuensi 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  dan hasilnya dibandingkan dengan N-Asetilglukosamin standar.

### 2. Pemanfaatan Chitosan Sebagai Agent Anti Kolesterol

Pemanfaatan chitosan sebagai agent anti kolesterol dilakukan dengan :

- a. Pemberian chitosan kulit kepiting ke dalam pakan mencit (*Mus musculus*), selanjutnya diukur kadar trigliserida darah mencit tersebut.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental. Dilakukan pemberian kuning telur 1 ml untuk meningkatkan kadar trigliserida darah mencit selama 2

minggu. Setelah kadar trigliserida darah mencit meningkat, kemudian diberikan chitosan kulit kepiting sebanyak 30ml/kg BB selama 2 minggu dengan tetap memberikan kuning telur pada pagi hari. Kemudian kadar trigliserida darah diukur dengan menggunakan Reflotron Plus untuk melihat penurunan kadar trigliserida darah mencit. Untuk melihat efektifitas penurunan trigliserida oleh chitosan kulit kepiting, dibandingkan dengan mencit yang tidak diberikan chitosan kulit kepiting. Chitosan kulit kepiting diberikan sebanyak 30 ml/kg BB mencit dengan 10 kali ulangan. Dengan demikian, jumlah ulangan setiap Chitosan adalah 10 kali, dimana untuk 1 ulangan digunakan 2 ekor mencit sehingga jumlah keseluruhan mencit yang digunakan adalah 20 ekor, sebanyak 10 ekor untuk perlakuan chitosan kulit kepiting dan 10 ekor sebagai kontrol.

b. Pemberian chitosan kulit kepiting dalam upaya mereduksi kolesterol lemak kambing.

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental. Dimana dilakukan pemberian chitosan dengan variasi dosis yaitu 5g, 6g, 7g, 8g, 9g dan 10g dengan lama waktu penyerapan selama 5 menit ke dalam 50 ml lemak kambing. Sebanyak 4 kg lemak/gajih yang berasal dari daging kambing dipanaskan pada suhu tetap 60°C hingga menjadi lemak cair sebanyak kira-kira 1500 ml. Kadar kolesterol dalam lemak kambing mula-mula dianalisis. Selanjutnya dilakukan penyerapan kolesterol dengan menggunakan chitosan. Dalam penyerapan ini dilakukan ekstraksi dengan memasukkan chitosan yang dibuat secara biodegradasi enzimatik kedalam beaker glass yang berisi lemak kambing cair sebanyak 50 ml, diaduk suhu operasi dijaga tetap 60°C, waktu penyerapan dilakukan selama 5 menit, selanjutnya dilakukan proses penyaringan, filtratnya diambil untuk dianalisis kandungan kolesterolnya dengan spektrofotometer.

Data yang diperoleh selanjutnya ditabulasi dan dianalisis dengan Anava .

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 1. Karakterisasi Chitosan

##### a. Waktu Inkubasi Optimum

Waktu inkubasi optimum adalah waktu terbaik yang diperlukan enzim untuk bereaksi dengan substrat untuk menghasilkan produk yang terbanyak. Pada penelitian ini dilakukan variasi waktu 4, 8, 12, 16, 20, 24 dan 48 jam. Kondisi optimum yang didapatkan adalah 20 jam, baik untuk yang dilarutkan dalam air maupun dalam HCl. Penentuan waktu inkubasi optimum ini berdasarkan berat produk hasil *freeze dried* (Novandi, 2003).

##### b. Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum

Penambahan konsentrasi substrat terhadap konsentrasi enzim yang tetap akan menaikkan kecepatan reaksi. Tetapi setelah batas konsentrasi tertentu, tidak terjadi kenaikan kecepatan reaksi walaupun konsentrasi substrat diperbesar. Hal ini terjadi karena pada konsentrasi substrat yang rendah, bagian aktif enzim hanya menampung sedikit substrat. Bila konsentrasi substrat diperbesar, makin banyak substrat yang dapat berhubungan dengan enzim pada bagian aktif tersebut sehingga kecepatan reaksi akan semakin besar. Tetapi pada saat tertentu, semua bagian aktif enzim akan telah penuh diisi substrat, sehingga walaupun substrat ditambahkan, enzim tidak mempunyai lagi sisi aktif yang masih kosong untuk ditempati substrat (Poedjadi, 1989). Pada penelitian ini dilakukan variasi konsentrasi substrat 10, 20, 30, 40 dan 50 mg/ml larutan enzim. Dan didapatkan kondisi optimum pada konsentrasi 30 mg/ml larutan enzim, baik untuk yang dilarutkan dalam air maupun dalam HCl (Novandi, 2003).

##### c. Kadar Air

Dari penelitian ini diperoleh kadar air chitosan kulit kepiting hasil biodegradasi enzimatik dengan persentase yang sangat kecil yaitu 2,9 %. Berarti bahwa aktifitas air sangat kecil sehingga bisa dipastikan bahwa chitosan kulit udang hasil enzimatik ini



tahan terhadap serangan mikroba yang mampu hidup pada aktifitas atau kadar air yang lebih tinggi (Bucke dan edward, 1985). Cara perhitungan kadar air kitin dapat dilihat pada Lampiran. Adanya kandungan air pada bahan dapat mempengaruhi daya tahan suatu bahan terhadap serangan mikroba, reaksi kimia, hidrolisis, dan reaksi enzimatik (Winarno, 1994). Sampel yang dianalisa sering mengandung air yang jumlahnya tidak menentu. Jumlah air yang terkandung, sering tergantung dari perlakuan yang telah dialami sampel, kelembabano san udara tempat penyimpanannya, dan ukuran partikel (Harjadi,1986). Semakin kecil ukuran partikel, air yang terserap akan semakin banyak karena luas permukaannya besar (Fritz and Schenk, 1969). Ada dua macam kandungan air, air yang terikat secara fisik dan air yang terikat secara kimia. Untuk menghilangkan air yang terikat secara fisik diperlukan panas rendah, hanya untuk menguapkannya. Jumlah air yang terikat secara fisik tidak tertentu. Sedangkan air yang terikat secara kimia jumlahnya tertentu, menurut suatu perbandingan berat yang tergantung dari macam bahan (Harjadi, 1986). Dengan kadar air chit yang rata-rata 2,9% dan masih berada pada standar Protan Lab. Inc. (<10%), berarti chitosan yang diperoleh mempunyai kestabilan optimum dalam penyimpanan

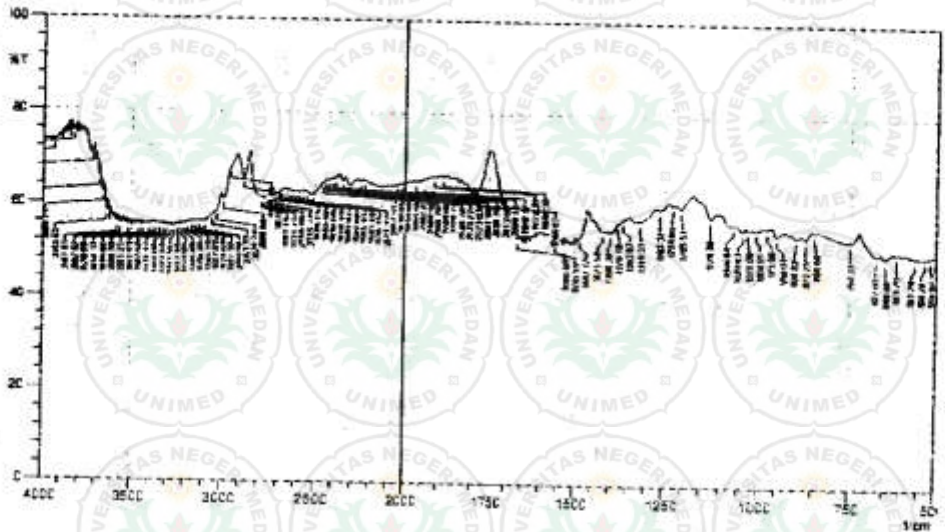
#### d. Kadar Abu

Abu adalah sisa tertinggal setelah bahan dibakar sampai bebas karbon. Sisa tertinggal ini merupakan unsur-unsur mineral yang terdapat dalam suatu bahan. Dari serangkaian proses ekstraksi kitin, proses yang berperan penting dalam penentuan kadar abu adalah proses pemisahan mineral dan pencuciannya. Kadar abu pada kitin terutama disebabkan oleh garam-garam anorganik yaitu  $\text{CaCO}_3$  dan  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  yang belum tereliminasi secara sempurna. Proses pengabuan ini dilakukan pada  $600^\circ\text{C}$  karena pada suhu tersebut semua senyawa karbon habis terbakar hingga diperoleh abu berwarna putih. Dari penelitian ini didapatkan kadar abu chitosan kulit kepiting hasil biodegradasi enzimatik yang cukup rendah yaitu 1,95 %. Hal disebabkan proses demineralisasi chitosan kulit kepiting sudah efektif karena masih lebih kecil dari kadar abu kitin standar Protan Inc. yaitu 2%, sehingga dapat dikatakan bahwa proses pemisahan mineral dan pencucian yang dilakukan cukup efektif. Selain itu, dengan kadar abu yang rendah maka

kitin yang dihasilkan dapat digunakan dengan baik seperti dalam bidang kesehatan yang memerlukan kitin dengan kemurnian yang tinggi.

#### e. Spektroskopi IR

Spektroskopi dilakukan bertujuan untuk menentukan gugus fungsi utama senyawa organik. Spektra IR chitosan kulit kepiting diperlihatkan pada gambar 5 berikut :

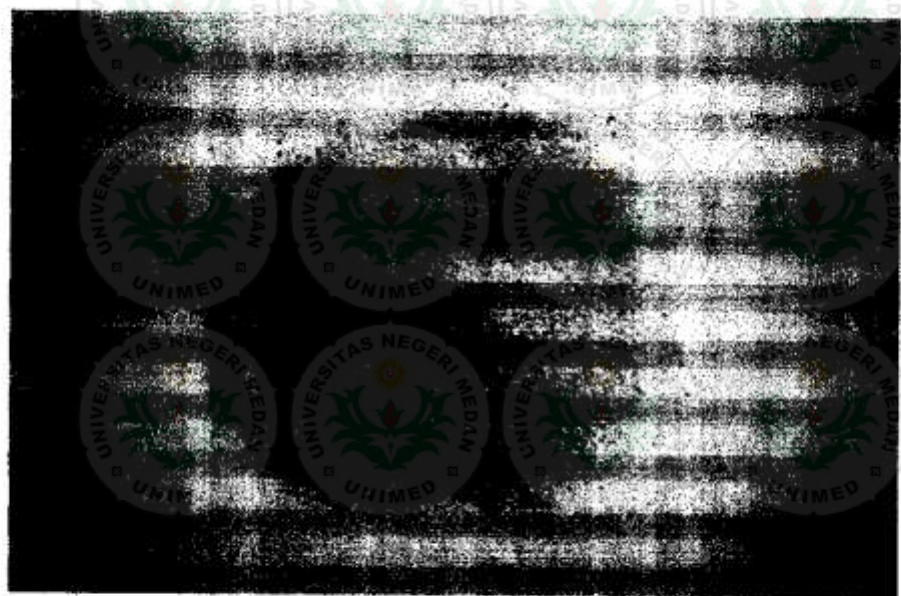


Gambar 5. Spektra IR chitosan kulit kepiting

Dari data spektroskopi IR diperoleh bahwa spektrum serapan chitosan terhadap Na OH sebagai zat pengganti gugus asetamid dengan gugus amino cukup tinggi.



Gambar 6. Kepiting



Gambar 7. Chitosan Kulit Kepiting

Setelah diperoleh chitosan dengan cara degradasi enzimatis dilakukan uji chitosan sebagai agent anti kolesterol.

## 2. Chitosan Sebagai Agent Anti Kolesterol

Penelitian dilakukan untuk melihat efektivitas chitosan sebagai agent anti kolesterol dengan melakukan perlakuan pada mencit (*Mus musculus*). Sebelum diberikan perlakuan pemberian chitosan kulit kepiting, dilakukan peningkatan kadar trigliserida darah mencit dengan memberikan kuning telur setiap harinya dengan cara dicekok selama 2 minggu. Ada 2 kelompok perlakuan pada penelitian ini. Kelompok (X) adalah mencit yang diberikan perlakuan chitosan kulit kepiting, sedangkan kelompok (Y) adalah mencit yang tidak diberikan chitosan kulit kepiting (kontrol). Tahap dua minggu pertama kedua kelompok diberikan kuning telur sebanyak 1 ml untuk meningkatkan kadar trigliserida. Setelah itu darah mencit diukur kadar trigliseridanya dengan menggunakan alat Reflotron Plus. Sedangkan tahap dua minggu kedua, kelompok (X) diberikan chitosan kulit kepiting sebanyak 30ml/kg BB, sedangkan kelompok (Y) kontrol tidak diberikan chitosan kulit kepiting. Setelah 2 minggu kemudian darah mencit diukur lagi untuk melihat kadar trigliserida dengan menggunakan alat Reflotron Plus.

Kuning telur yang diberikan kepada mencit sebanyak 1 gr yang ditimbang menggunakan neraca Ohaus dan dicekok dengan menggunakan spuid 1 ml.

Chitosan yang diberikan adalah 3 gr/kg berat badan. Chitosan diencerkan dengan menggunakan 400 ml cuka 2 % + 600 ml aquades untuk mendapatkan chitosan dalam bentuk cair sebanyak 1 liter

Untuk mendapatkan chitosan yang akan diberikan pada penelitian ini dilakukan perhitungan sebagai berikut:

$$\frac{3}{x} = \frac{100}{1000}$$

$$x = 30 \text{ ml/kg berat badan}$$

Dengan demikian, jumlah ulangan tiap perlakuan adalah 10 kali, dimana untuk 1 ulangan digunakan 1 ekor mencit sehingga jumlah keseluruhan mencit yang digunakan sebanyak 20 ekor untuk perlakuan chitosan kulit kepiting 10 ekor dan untuk perlakuan tanpa chitosan kulit kepiting 10 ekor mencit.

### a. Pemeriksaan Kadar Trigliserida Darah

#### 1. Pemeriksaan kadar trigliserida sebelum perlakuan.

Sebelum perlakuan dilakukan pengambilan darah mencit. Darah mencit diambil sebanyak 30  $\mu$ l dari ekor dengan memotong sedikit bagian dari ekor mencit, lalu kadar trigliserida darah diperiksa dengan menggunakan reflotron plus.

#### 2. Pemeriksaan kadar trigliserida setelah pemberian kuning telur.

Setelah pemberian kuning telur yang dicekok terhadap mencit selama 2 minggu, kemudian diperiksa trigliserida darahnya. Darah mencit diambil sebanyak 30  $\mu$ l dari ekor dengan memotong sedikit bagian dari ekor mencit, lalu kadar trigliserida darah diperiksa dengan menggunakan reflotron plus.

3. Setelah 2 minggu perlakuan, dilakukan pengambilan darah mencit. Darah mencit diambil sebanyak 30  $\mu$ l dari ekor dengan memotong sedikit bagian dari ekor mencit, lalu darah diperiksa dengan menggunakan reflotron plus.

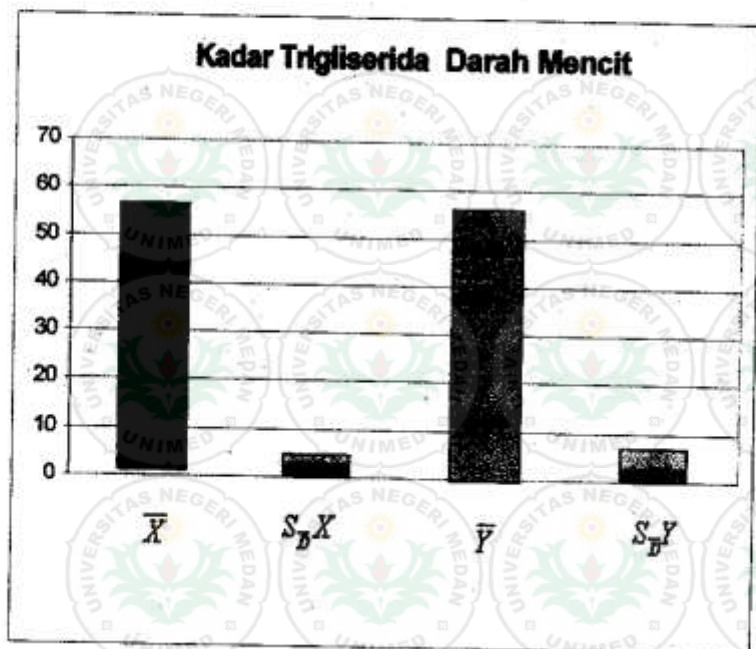
Setelah dilakukan penelitian mengenai perbedaan pemberian chitosan kulit kepiting terhadap kadar trigliserida darah mencit, dengan mengukur kadar trigliserida darah mencit awal, setelah peningkatan kadar trigliserida dengan pemberian kuning telur dan pemberian chitosan kulit kepiting. Hasil pengukuran kadar trigliserida dapat dilihat sebagai berikut :

**Tabel 4.1. Kadar Trigliserida Darah Mencit Sebelum Diberi Perlakuan**

No	Kadar Trigliserida ( mg/dl )		X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>
	X	Y		
1.	49	53	2401	2809
2.	58	62	3364	3844
3.	61	56	3721	3136
4.	50	47	2500	2209
5.	57	53	3249	2809
6.	59	64	3481	4096
7.	62	58	3844	3364
8.	56	51	3136	2601

9.	59	63	3481	3969
10.	55	61	3025	3721
$\Sigma$	566	568	32202	32558
$\bar{Y}$	56,6	56,8	3220,2	3255,8

Data tersebut dianalisis untuk memperoleh rata-rata standard deviasi pada mencit yang sebelum diberi perlakuan sehingga didapat nilai rata-rata perhitungan kadar trigliserida untuk perlakuan chitosan kulit kepiting ( $\bar{X} = 56,6$  mg/dl) dengan standard deviasi ( $S_D = 4,29$  mg/dl). Sedangkan nilai rata-rata perhitungan kadar trigliserida pada perlakuan kontrol ( $\bar{Y} = 56,8$  mg/dl) dengan standard deviasi ( $S_D = 5,73$  mg/dl).



**Gambar 4.1. Standard Deviasi dan Nilai Rata-rata Kadar Trigliserida Darah Mencit sebelum perlakuan**

Keterangan :

$\bar{X}$  = Nilai rata-rata kadar trigliserida darah mencit pada perlakuan chitosan kulit keping (mg/dl)

$S_D X$  = Standarad deviasi kadar trigliserida darah mencit pada perlakuan chitosan kulit keping.

$\bar{Y}$  = Nilai rata-rata kadar trigliserida darah mencit pada perlakuan kontrol (mg/dl)

$S_D Y$  = Standarad deviasi kadar trigliserida darah mencit pada perlakuan kontrol.

**Tabel 4.2. Tabel Uji t (Uji-Test) Kadar Trigliserida Darah Mencit Sebelum Perlakuan**

No.	Kadar Trigliserida (mg/dl)		$(X - \bar{X})$	$(X - \bar{X})^2$	$(Y - \bar{Y})$	$(Y - \bar{Y})^2$
	X	Y				
1.	49	53	-7,6	57,76	-3,8	14,44
2.	58	62	1,4	1,96	5,2	27,04
3.	61	56	4,4	19,36	-0,8	0,64
4.	50	47	-6,6	43,56	-9,8	96,04
5.	57	53	0,4	0,16	-3,8	14,44
6.	59	64	2,4	5,76	7,2	51,84
7.	62	58	5,4	29,16	1,2	1,44
8.	56	51	-0,6	0,36	-5,8	33,64
9.	59	63	-2,4	5,76	6,2	38,44
10.	55	61	-1,6	2,56	4,2	17,64
$\Sigma$	566	568	-	166,4	-	295,6
$\bar{Y}$	56,6	56,8	-	16,64	-	29,56

Kadar trigliserida yang di uji sebelum diberi perlakuan di analisis dengan uji test (uji-t) untuk melihat beda rata-rata antar perlakuan. Dari hasil analisis uji test diatas didapat bahwa tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dimana t hitung (0,08) lebih kecil dibandingkan dengan t tabel (1,734). Ini disebabkan karena kadar trigliserida darah mencit masih normal dan belum mendapatkan perlakuan apapun. Setelah kadar trigliserida darah diperiksa kemudian dilanjutkan dengan pemberian kuning telur untuk meningkatkan kadar trigliserida masing-masing mencit.



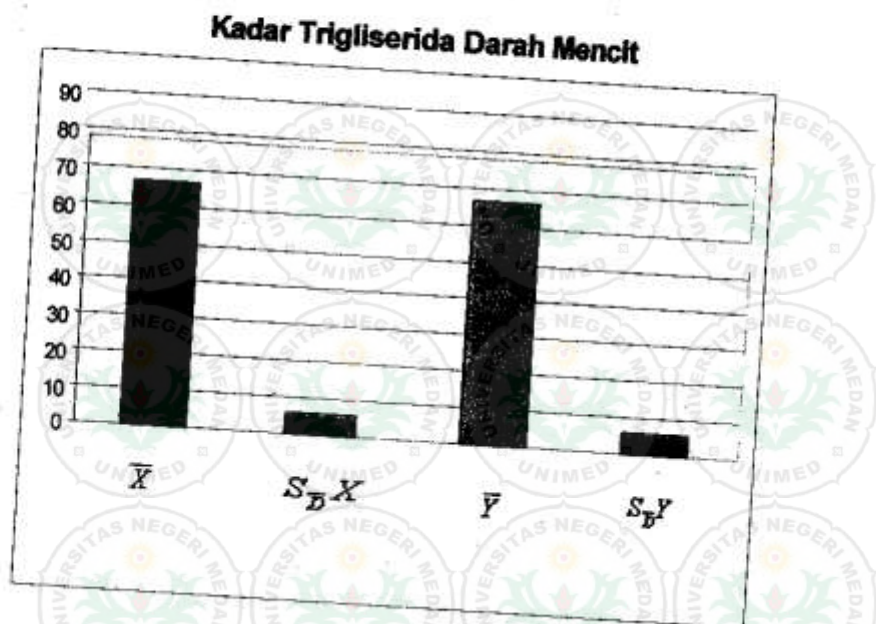
Kadar trigliserida darah mencit setelah diberikan kuning telur 1 gr dengan cara dicekok menggunakan spuid 1 ml selama 2 minggu dapat dilihat pada tabel 4.3. dibawah ini :

**Tabel 4.3 Kadar Trigliserida Darah Mencit Setelah Pemberian Kuning Telur**

No	Kadar Trigliserida (mg/dl)		X <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>
	X	Y		
1.	59	61	3481	3721
2.	69	70	4761	4900
3.	72	69	5184	4761
4.	61	56	3721	3136
5.	69	66	4761	4356
6.	70	74	4900	5476
7.	74	69	5476	4761
8.	64	59	4096	3481
9.	68	71	4624	5041
10.	66	69	4356	4761
Σ	672	664	45360	44394
$\bar{Y}$	67,2	66,4	4536,0	4439,4

Pada tabel 4.3 terlihat bahwa hasil kadar trigliserida darah mencit setelah diberi kuning telur 1 gr yang dicekok pada tiap-tiap mencit naik. Kadar trigliserida pada perlakuan kontrol sebesar 66,4 mg/dl (naik sebesar 14,45 %), sedangkan pada perlakuan chitosan kulit kepiting kadar trigliserida darahnya sebesar 67,2 mg/dl (naik sebesar 15,77 %).

Data tersebut dianalisis untuk memperoleh rata-rata standard deviasi pada mencit setelah diberi kuning telur sehingga didapat nilai rata-rata perhitungan kadar trigliserida untuk perlakuan chitosan kulit kepiting ( $\bar{X} = 67,2$  mg/dl) dengan standard deviasi ( $S_{\bar{D}} = 4,73$  mg/dl). Sedangkan nilai rata-rata perhitungan kadar trigliserida pada perlakuan kontrol ( $\bar{Y} = 66,4$  mg/dl) dengan standard deviasi ( $S_{\bar{D}} = 5,81$  mg/dl).



**Gambar 4.2. Standard Deviasi dan Nilai rata-rata Kadar Trigliserida Darah Mencit setelah Pemberian Kuning Telur.**

Keterangan :

$\bar{X}$  = Nilai rata-rata kadar trigliserida darah mencit pada perlakuan chitosan kulit kepiting (mg/dl)

$S_D X$  = Standarad deviasi kadar trigliserida darah mencit pada perlakuan chitosan kulit kepiting

$\bar{Y}$  = Nilai rata-rata kadar trigliserida darah mencit pada perlakuan kontrol (mg/dl)

$S_D Y$  = Standarad deviasi kadar trigliserida darah mencit pada perlakuan kontrol.

Tabel 4.4. Tabel Uji-t (Uji-Test) Kadar Trigliserida Darah Mencit Setelah Pemberian Kuning Telur

No.	Kadar Trigliserida (mg/dl)		$(X - \bar{X})$	$(X - \bar{X})^2$	$(Y - \bar{Y})$	$(Y - \bar{Y})^2$
	X	Y				
1.	59	61	-8,2	67,24	-5,4	29,16
2.	69	70	1,8	3,24	3,6	12,96
3.	72	69	4,8	23,04	2,6	6,76
4.	61	56	-6,2	38,44	-10,4	108,16
5.	69	66	1,8	3,24	-0,4	0,16
6.	70	74	2,8	7,84	7,6	57,76
7.	74	69	6,8	46,24	2,6	6,76
8.	64	59	-3,2	10,24	-7,4	54,76
9.	68	71	0,8	0,64	4,6	21,16
10.	66	69	-1,2	1,44	2,6	6,76
$\Sigma$	672	664	-	201,6	-	304,4
$\bar{Y}$	67,2	66,4	-	20,16	-	30,44

Setelah dilakukan pemberian kuning telur sebanyak 1 gr kepada masing-masing mencit dengan cara dicekok menggunakan spuid 1 ml kadar trigliserida meningkat. Dari tabel diatas (tabel 4.4) dianalisis dengan uji test (uji-t) juga belum menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara perlakuan kontrol dan chitosan kulit kepiting dimana t hitung (- 0,33) lebih kecil dibandingkan dengan t tabel (1,734). Ini disebabkan karena banyaknya kuning telur yang diberikan pada mencit sama pada setiap masing-masing perlakuan.

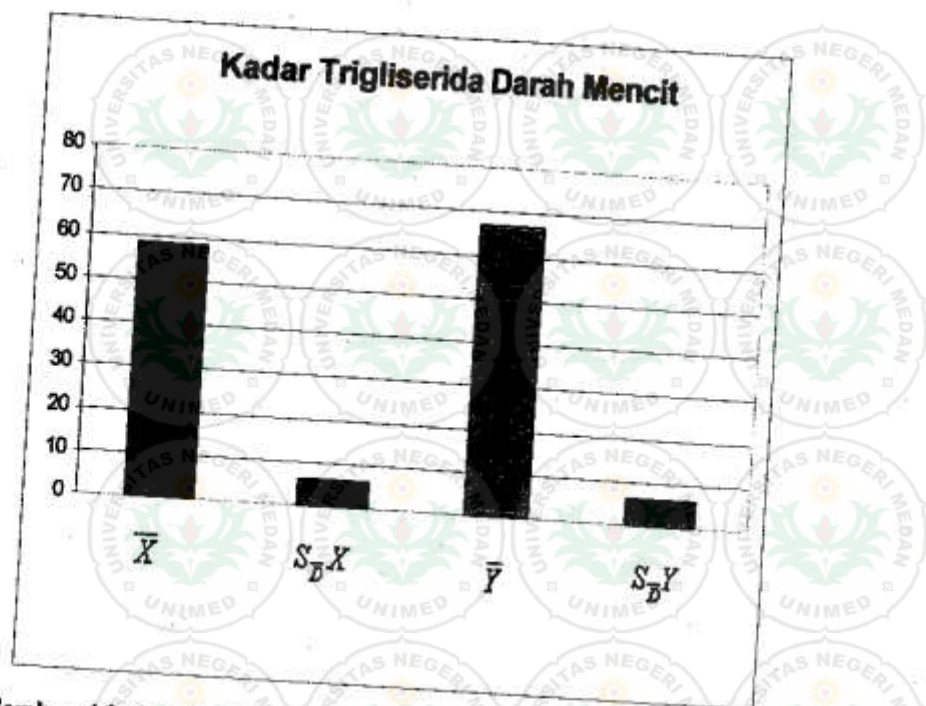
Tabel 4.5. Kadar Trigliserida Setelah Pemberian Chitosan Kulit Kepiting

No	Kadar Trigliserida (mg/dl)		$X^2$	$Y^2$
	X	Y		
1.	47	57	2209	3249
2.	54	68	2916	4624
3.	60	67	3600	4489
4.	51	54	2601	2916
5.	56	62	3136	3844
6.	58	72	3364	5184
7.	60	63	3600	3969
8.	53	56	2809	3136
9.	52	69	2704	4761
10.	50	67	2500	4489
$\Sigma$	541	635	29439	40661
$\bar{y}$	54,1	63,5	2943,9	4066,1

Kadar trigliserida darah mencit pada tabel diatas (4.5) dapat dilihat bahwa pemberian chitosan kulit kepiting lebih efektif dibandingkan pada perlakuan kontrol (tanpa pemberian chitosan kulit kepiting).

Dimana rata-rata kadar trigliserida darah mencit pada perlakuan chitosan kulit kepiting sebesar 54,1 mg/dl menurun dari 67,2 mg/dl (turun sebesar 19,49 %) dan kadar trigliserida darah mencit pada perlakuan kontrol sebesar 63,5 mg/dl menurun dari 66,4 mg/dl (turun sebesar 4,5 %).

Data tersebut dianalisis untuk memperoleh rata-rata standard deviasi pada mencit kontrol dan setelah pemberian chitosan kulit kepiting sehingga didapat nilai rata-rata perhitungan kadar trigliserida untuk perlakuan chitosan kulit kepiting ( $\bar{X} = 54,1$  mg/dl) dengan standard deviasi ( $S_D = 4,34$  mg/dl). Sedangkan nilai rata-rata perhitungan kadar trigliserida pada perlakuan kontrol ( $\bar{Y} = 66,4$  mg/dl) dengan standard deviasi ( $S_D = 6,1$  mg/dl).



Gambar 4.3. Standard Deviasi dan Nilai Rata-rata Kadar Trigliserida Darah Mencit Kontrol dan setelah Pemberian Chitosan Kulit Kepiting.

Keterangan :

$\bar{X}$  = Nilai rata-rata kadar trigliserida darah mencit pada perlakuan chitosan kulit kepiting (mg/dl)

$S_D X$  = Standarad deviasi kadar trigliserida darah mencit pada perlakuan chitosan kulit kepiting.

$\bar{Y}$  = Nilai rata-rata kadar trigliserida darah mencit kontrol (mg/dl)

$S_D Y$  = Standard deviasi kadar trigliserida darah mencit kontrol.

Untuk melihat apakah ada perbedaan kadar trigliserida darah mencit pada perlakuan chitosan kulit kepiting dan kontrol secara nyata maka dilakukan uji test (uji-t) yang hasilnya dapat dilihat pada tabel 4.6. dibawah ini :

Tabel 4.6. Tabel Uji t (Uji-Test) Setelah Pemberian Chitosan Kepiting

No.	Kadar Trigliserida (mg/dl)		$(X - \bar{X})$	$(X - \bar{X})^2$	$(Y - \bar{Y})$	$(Y - \bar{Y})^2$
	X	Y				
1.	47	57	-7,1	50,41	-6,5	42,25
2.	54	68	-0,1	0,01	4,5	20,25
3.	60	67	5,9	34,81	3,5	12,25
4.	51	54	-3,1	9,61	-9,5	90,25
5.	56	62	1,9	3,61	-1,5	2,25
6.	58	72	3,9	15,21	8,5	72,25
7.	60	63	5,9	34,81	-0,5	0,25
8.	53	56	-1,1	1,21	-7,5	56,25
9.	52	69	-2,1	4,41	5,5	30,25
10.	50	67	-4,1	16,81	3,5	12,25
$\Sigma$	541	635	-	170,9	-	338,5
$\bar{y}$	54,1	63,5	-	17,09	-	33,85

#### Uji Hipotesis

Dari hasil analisis diatas maka didapat hipotesis sebagai berikut :

Karena t hitung (3,96) lebih besar dibandingkan dengan t tabel (1,734) maka hipotesis nilai ( $H_0$ ) yang menyatakan tidak ada perbedaan kadar trigliserida darah mencit (*Mus musculus*) yang diberi chitosan kulit kepiting dan yang tidak diberikan chitosan kulit kepiting ditolak. Sehingga hipotesis alternatif ( $H_a$ ) yang menyatakan ada perbedaan kadar trigliserida darah mencit (*Mus musculus*) yang diberi chitosan kulit kepiting dan yang tidak diberikan chitosan kulit kepiting diterima.

### Perbedaan Kadar Trigliserida Darah Mencit pada Perlakuan Chitosan Kulit Kepiting & Kontrol



Gambar 4.4. Perbedaan Kadar Trigliserida Darah Mencit Pada Perlakuan Chitosan Kulit Kepiting & Kontrol

Keterangan :

P0 : Kadar Trigliserida Sebelum Perlakuan.

P1 : Kadar Trigliserida Setelah Peningkatan Trigliserida.

P2 : Kadar Trigliserida Setelah Pemberian Chitosan Kulit Kepiting & Kontrol

Pada gambar grafik diatas menunjukkan perbedaan kadar trigliserida darah mencit pada perlakuan Chitosan kulit Kepiting dan kontrol. Dimana kadar trigliserida dilihat dengan mengukur kadar trigliserida darah mencit awal, setelah peningkatan kadar trigliserida dengan pemberian kuning telur dan pemberian chitosan kulit kepiting.

Pada perlakuan kontrol sebelum diberikan perlakuan (P0), kadar trigliserida sebesar 56,8 mg/dl, kemudian setelah diberi kuning telur selama 2 minggu (P1), kadar trigliserida naik menjadi 66,4 mg/dl (naik sebesar 14,45 %). Kadar trigliserida darah mencit menurun setelah kuning telur tidak diberikan lagi selama 2 minggu (P2) dari 66,4 mg/dl menjadi 63,5 mg/dl (turun sebesar 4,5 %).

Sedangkan pada perlakuan chitosan kulit kepiting kadar trigliserida sebelum perlakuan (P0) sebesar 56,6 mg/dl dan selama 2 minggu diberi kuning telur (P1), kadar trigliserida meningkat menjadi 67,2 mg/dl (naik sebesar 15,77 %). Kadar trigliserida darah mencit menurun setelah adanya pemberian chitosan kulit kepiting (P2) dari 67,2 mg/dl menjadi 54,1 mg/dl (turun sebesar 19,49 %).

Chitosan bersifat hidrofilik dan mempunyai gugus berbeda dengan kitin yaitu gugus amino bebas dan hidroksil. Terdapatnya gugus hidroksil dan amino pada rantai molekul kitin dan chitosan, maka keduanya akan mampu bertindak sebagai donor pasangan elektron. Berdasarkan sifat tersebut maka kitin/chitosan memiliki potensi absorben diduga dapat berinteraksi dan berikatan dengan trigliserida dan lemak-lemak jenuh.

Kadar trigliserida darah mencit hasil penelitian ini berkisar 56,6 – 67,2 mg/dl. Pada perlakuan kontrol sebelum diberikan perlakuan kadar trigliserida sebesar 56,8 mg/dl dan pada perlakuan chitosan kulit kepiting sebesar 56,6 mg/dl. Setelah diberikan kuning telur sebanyak 1 gr yang dicekok dengan menggunakan spuid 1 ml selama 2 minggu kadar trigliserida naik. Kadar trigliserida pada perlakuan kontrol sebesar 66,4 mg/dl (naik sebesar 14,45 %) sedangkan pada perlakuan chitosan kulit kepiting kadar trigliserida darahnya sebesar 67,2 mg/dl (naik sebesar 15,77 %).

Hasil analisis menunjukkan bahwa chitosan kulit kepiting berpengaruh terhadap penurunan kadar trigliserida darah mencit. Kadar trigliserida darah mencit pada perlakuan kontrol menurun dari 66,4 mg/dl menjadi 63,5 mg/dl (turun sebesar 4,5 %). Sedangkan perlakuan chitosan kulit kepiting sebesar 67,2 mg/dl menjadi 54,1 mg/dl (turun sebesar 19,49 %).

Prinsip utama menurunkan kadar trigliserida tinggi dalam darah yaitu dengan mengurangi asupan trigliserida dari makanan (trigliserida eksogen), mengurangi trigliserida endogen, mengurangi penyerapan trigliserida dan menambah pembuangan dari usus (Primana, 2008).

Penurunan kadar trigliserida ini disebabkan kemampuan chitosan dalam mengikat lemak dan membuangnya dari saluran pencernaan. Chitosan mempunyai gugus bermuatan positif yang mengikat muatan negatif dalam trigliserida dan asam-asam lemak jenuh. Ikatan yang terbentuk tidak dapat dicerna dan diserap oleh usus halus disebabkan sifat chitosan itu sama dengan serat, sehingga lemak-lemak dari makanan ditepis dan dikeluarkan dari tubuh tidak diserap ke dalam tubuh (Hawab, 2001).

Lipid seperti trigliserida kolesterilester tidak larut dalam air dan ditranspor dalam plasma pada inti partikel (lipoprotein) yang mempunyai suatu cangkang hidrofilik yang terdiri dari fosfolipid dan kolesterol bebas. Lapisan permukaan ini distabilisasi oleh satu atau lebih apolipoprotein yang juga berperan sebagai ligan untuk reseptor permukaan sel. Sekitar dua



pertiga lipoprotein plasma disintesis di hati. Trigliserida disekresi ke dalam darah sebagai *very low density lipoprotein (VLDL)*. Di dalam otot dan jaringan adiposa, kapiler-kapiler memiliki suatu enzim yaitu lipoprotein lipase yang menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak; kemudian asam lemak ini memasuki sel otot (untuk energi) dan adiposit (untuk simpanan). Partikel residu yang terdiri dari inti yang kaya akan kolesterilester (CE) disebut partikel *low density lipoprotein (LDL)* yang menyingkirkan LDL dari plasma melalui endositosis. Penyingkiran LDL yang diperantarai reseptor hati merupakan mekanisme utama untuk mengendalikan kadar LDL plasma. (Davey, 2002)

Kulit keping mengandung protein (15,60%-23,90%), chitin (18,70%-32,20%) dan kalsium karbonat (53,70%-78,40%). Kandungan chitosan pada keping setelah mengalami deasetilasi mencapai 50%-60%, sementara limbah udang menghasilkan 42%-57% (Marganof, 2003).

**Tabel 4.7. Tabel Kandungan Kulit Keping**

No.	Jenis Kandungan	Kulit Keping
1.	Protein	15,60%-23,90%
2.	Chitin	18,70%-32,20%
3.	Kalsium Karbonat	53,70%-78,40%

Chitosan dapat mengurangi kadar trigliserida dengan cara yaitu : Jika chitosan terkena asam lambung (HCl), senyawa tersebut akan berubah menjadi semacam gel yang dapat membungkus bukannya saja molekul kolesterol dalam getah empedu tapi juga molekul lemak dalam makanan. Trigliserida dan lemak yang terbungkus secara otomatis akan terbuang bersama sistem eliminasi dan ekskresi tubuh, maka dari itu chitosan dapat dianggap sebagai obat pelangsing dan relatif aman karena ini adalah bahan alami mekanismenya tidak dipengaruhi sistem tubuh secara menyeluruh (Primana, 2008).

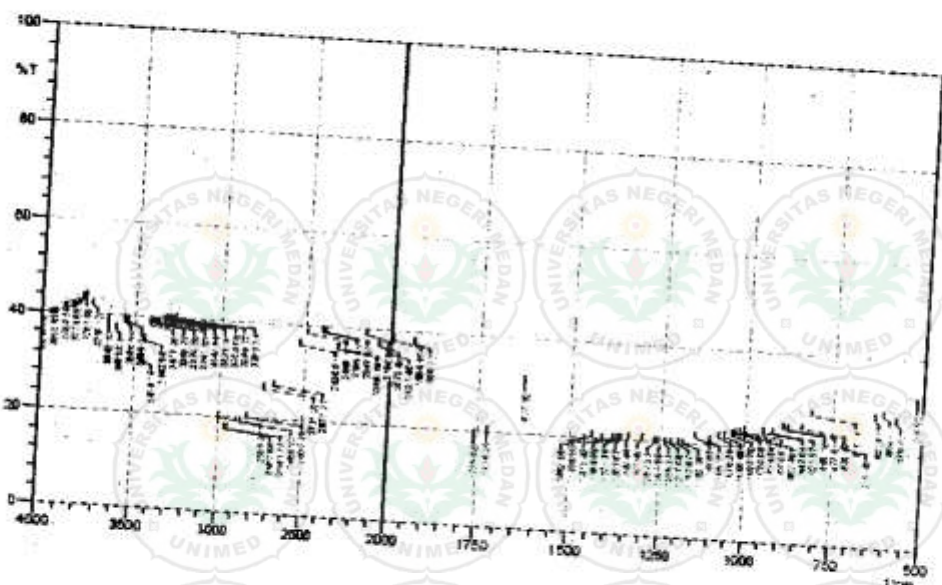
Sebagaimana LDL, partikel VLDL dapat menumpuk pada dinding pembuluh darah arteri. Tidak demikian halnya dengan kilomikron yang karena berukuran besar tidak sanggup menembus dinding pembuluh darah (dengan perkecualian kilomikron berukuran mini, yang biasa disebut kilomikron remnant). Pada orang sehat, kilomikron tidak bisa dideteksi dalam darah setelah puasa. Namun demikian, ketika kadar trigliserida lebih tinggi daripada 300 mg/dl ia dapat ditemukan di dalam darah.

Ketika kadar trigliserida menjadi terlalu tinggi, darah seseorang dapat menyerupai susu, karena kehadiran kilomikron. Kadar trigliserida yang lebih tinggi daripada 1.000 pada manusia dapat meninggikan risiko pankreatitis, suatu radang pankreas yang tidak hanya menimbulkan nyeri yang amat sangat, lebih gawat lagi dapat mengancam nyawa, dan memerlukan tindakan segera. Sementara ketika kadarnya di antara 400-500 kita berada pada situasi yang tak bisa diduga, sebab level ini dalam waktu yang sangat cepat naik melebihi angka 1.000 mg/dl. Oleh karena alasan inilah, perhatian utama para ahli lebih terpusat pada kisaran angka 200 hingga 400 sampai 500 mg/dl.

Sekalipun tingginya kadar trigliserida terkait dengan faktor genetik, pola hidup memiliki andil yang sangat besar. Makan berlebihan dan tidak aktif melakukan aktivitas fisik (berolahraga), suatu kombinasi yang dapat menyebabkan kegemukan akan memicu melonjaknya kadar trigliserida. Naiknya trigliserida darah memiliki kaitan dengan meningkatnya risiko penyakit jantung koroner, khususnya pada mereka yang juga menderita problem kesehatan lain seperti kencing manis. Kadar HDL yang rendah sering muncul bersamaan dengan kenaikan trigliserida. Oleh karena itu kadar trigliserida dalam tubuh diharapkan menurun atau dalam ambang batas normal dan dalam penelitian ini terjadi penurunan kadar trigliserida dalam darah mencit.

### **3. Uji Agent Anti kolesterol chitosan kulit kepiting secara Biodegradasi enzimatik terhadap kolesterol kambing.**

Lemak kambing diberi perlakuan chitosan biodegradasi enzimatik dengan dosis 5 gr/ 50 ml lemak kambing cair, 6 gr/ 50 ml lemak kambing cair, 7 gr/ 50 ml lemak kambing cair, 8 gr/ 50 ml lemak kambing cair, 8 gr/ 50 ml lemak kambing cair, 9 gr/ 50 ml lemak kambing cair, 10 gr/ 50 ml lemak kambing cair. Adapun kadar kolesterol lemak kambing mula – mula yang dianalisis dengan spektrofotometer adalah sebesar 37,241% (lampiran 1).



Gambar 16. Spektrofotometer Kolesterol Mula – Mula

Pada Tabel 16. menunjukkan bahwa kadar kolesterol terendah terdapat pada perlakuan  $X_3$  (7 gram) yaitu 18.487%, sedangkan yang tertinggi pada perlakuan  $X_1$  (kontrol) yaitu 30.321%.

Tabel 4.8. Kadar Kolesterol Lemak Kambing Yang Diberi Chitosan Kulit Kepiting secara Biodegradasi Enzimatik.

Perlakuan	Kadar Kolesterol Lemak Kambing				Total	Rata-rata
	Ulangan					
	I	II	III	IV		
$X_1 = 5$ gr	31.539	30.727	29.915	29.103	121.284	30.321
$X_2 = 6$ gr	23.519	22.707	21.895	21.083	89.204	22.301
$X_3 = 7$ gr	19.440	19.028	18.096	17.384	73.948	18.487
$X_4 = 8$ gr	24.464	24.052	23.120	22.408	104.745	23.511
$X_5 = 9$ gr	28.031	27.619	26.687	25.975	108.312	27.078
$X_6 = 10$ gr	31.305	30.493	29.681	28.869	120.348	30.087

Daya Serap Chitosan Kulit Kepiting secara Biodegradasi Enzimatik

Pada Tabel 17. menunjukkan bahwa daya serap tertinggi chitosan kulit kepiting secara biodegradasi enzimatik terdapat pada perlakuan  $X_3$  (7 gram) yaitu 50.358%, sedangkan yang terendah pada perlakuan  $X_1$  (kontrol) yaitu 18.582%.

Tabel 4.9. Pesentase (%) Daya Serap Chitosan Kulit Kepiting secara Biodegradasi Enzimatik

Perlakuan	Persentase (%) Penyerapan Lemak Oleh Chitosan Enzimatik				Total	Rata-rata
	Ulangan					
	I	II	III	IV		
X1 = 5 gr	15.311	17.491	19.672	21.852	74.327	18.582
X2 = 6 gr	36.846	39.027	41.207	43.388	160.468	40.117
X3 = 7 gr	47.799	48.906	51.408	53.320	201.434	50.358
X4 = 8 gr	34.309	35.415	37.918	39.830	147.472	36.868
X5 = 9 gr	24.731	25.837	28.340	30.252	109.159	27.290
X6 = 10 gr	15.939	18.120	20.300	22.481	76.840	19.210

Untuk mengetahui pengaruh persentase (%) daya serap chitosan kulit kepiting secara biodegradasi enzimatik terhadap kadar kolesterol kambing maka dilakukan uji statistik (lampiran I). Hasil uji statistik dapat dilihat pada tabel sidik ragam, seperti pada tabel 18. berikut :

Tabel 4.10. Daftar Sidik Ragam (ANOVA) persentase (%) Daya Serap Chitosan Kulit Kepiting secara Biodegradasi Enzimatik.

SUMBER KERAGAMAN	DB	JK	KT	F HITUNG	F TABEL	
PERLAKUAN	5.00	3169.64	633.93	89.91	0.05	0.01
GALAT	18.00	126.91	7.05		2.77	4.25
TOTAL	23.00	3296.55				

Dari analisis sidik ragam pada tabel 18 dapat dilihat bahwa perlakuan dengan menggunakan chitosan kulit udang hasil Enzimatik sangat berpengaruh terhadap penurunan kadar kolesterol lemak kambing  $F_{hit} (89.91) > F_{tabel} (2.77, 4.25)$ . Uji ketelitian dilakukan dengan perhitungan koefisien keragaman (KK) yang diperoleh dari hasil perhitungan = 1,37 % < dari 20 % maka penelitian dikatakan teliti.

Tabel 4.11. Uji Beda Nyata Terkecil untuk persentase (%) Daya Serap Chitosan Kulit kepiting secara Biodegradasi Enzimatik.

Perlakuan	Rata-rata	Beda Rata-Rata Perlakuan					
		X1	X2	X3	X4	X5	P6
X1 = 5 gr	18.58	-	-	-	-	-	-
X2 = 6 gr	40.12	21.54**	-	-	-	-	-
X3 = 7 gr	50.36	31.78**	10.24**	-	-	-	-
X4 = 8 gr	36.87	18.29**	18.29**	13.49**	-	-	-
X5 = 9 gr	27.29	8.71**	8.71**	23.07**	9.58**	-	-
X6 = 10 gr	19.21	0.63 <sup>tn</sup>	20.91**	31.15**	17.66**	8.08**	-

Keterangan : \*\* Berbeda Sangat Nyata

\* Berbeda Nyata

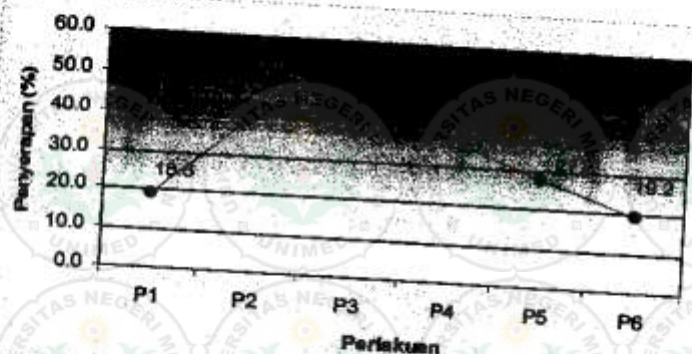
<sup>tn</sup> Tidak Nyata

BNT (0,05) = 3.94

BNT (0,01) = 4.04

Dari hasil uji beda nyata terkecil (BNT), dapat dijelaskan bahwa kadar kolesterol kambing pada perlakuan X<sub>1</sub> berbeda nyata dengan X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub>, X<sub>4</sub> dan X<sub>5</sub> dan tidak nyata dengan X<sub>6</sub>. Kadar kolesterol pada perlakuan X<sub>2</sub> berbeda nyata dengan X<sub>3</sub>, X<sub>4</sub>, X<sub>5</sub> dan X<sub>6</sub>. Kadar kolesterol pada perlakuan X<sub>3</sub> berbeda nyata dengan X<sub>4</sub>, X<sub>5</sub> dan P<sub>6</sub>. Kadar kolesterol pada perlakuan X<sub>4</sub> berbeda nyata dengan X<sub>5</sub> dan X<sub>6</sub>. Kadar kolesterol pada perlakuan X<sub>5</sub> berbeda nyata dengan perlakuan X<sub>6</sub>. Untuk mengetahui pengaruh pemberian chitosan kulit kepiting terhadap kadar kolesterol kambing dapat dilihat pada gambar 17 di bawah ini:

Dari data di atas maka dapat dikatakan pengaruh chitosan kulit kepiting secara biodegradasi enzimatik sebagai agent anti kolesterol kambing berbeda sangat nyata. Maka hipotesis H<sub>0</sub> tidak ada pengaruh chitosan kulit kepiting secara biodegradasi enzimatik sebagai agent anti kolesterol kambing ditolak dan hipotesis H<sub>a</sub>, ada pengaruh chitosan kulit kepiting secara biodegradasi enzimatik sebagai agent anti kolesterol kambing diterima.



Gambar 17. Persentase (%) chitosan kulit kepiting secara biodegradasi enzimatis dalam menyerap kolesterol kambing

Keterangan:

- P1 = 5 g/ 50 ml Lemak Kambing Cair
- P2 = 6 g/ 50 ml Lemak Kambing Cair
- P3 = 7 g/ 50 ml Lemak Kambing Cair
- P4 = 8 g/ 50 ml Lemak Kambing Cair
- P5 = 9 g/ 50 ml Lemak Kambing Cair
- P6 = 10 g/ 50 ml Lemak Kambing Cair

Pada gambar 17 perlakuan P3 memiliki hasil yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan – perlakuan yang lain (P1, P2, P4, P5 dan P6). Dan pada gambar juga tampak bahwa terjadi perubahan pola setelah persentase penyerapan kolesterol optimal pada perlakuan P3 maka perlakuan berikutnya persentase penyerapan menjadi menurun. Hal tersebut terjadi disebabkan karena pada perlakuan P4, P5 dan P6 lemak cair yang dimasukkan chitosan ke dalamnya menjadi sangat jenuh dan sulit untuk melakukan pengadukan akibatnya penyerapan menjadi tidak maksimal (bubuk chitosan menjadi lebih banyak dari pada pada lemak cair). Sedangkan pada perlakuan P1, P2 dan P3 penyerapan masih berlangsung baik diakibatkan bubuk chitosan tidak terlalu banyak dan campuran yang terjadi belum jenuh sehingga penyerapan tidak terganggu.

Dari gambar 17 tersebut tergambar jelas pemberian dosis 7 gr memberikan hasil yang lebih baik terhadap penurunan kadar kolesterol lemak kambing mula – mula dari pada dosis 5 gr, 6 gr, 8 gr, 9 gr dan 10 gr yaitu sebesar 37,24%. Pada pemberian chitosan kulit udang hasil enzimatis memberikan dampak penurunan kadar kolesterol yang optimal juga pada dosis 7 gr dengan penurunan yang lebih besar. Kadar kolesterol menjadi 18,48 %.

Chitosan mempunyai gugus bermuatan positif yang mengikat muatan negatif dalam kolesterol dan asam-asam lemak jenuh. Ikatan yang terbentuk tidak dapat dicerna dan diserap oleh usus halus disebabkan sifat chitosan itu sama dengan serat, sehingga lemak-lemak dari makanan ditepis dan dikeluarkan dari badan tidak diserap ke dalam badan (Hawab, 2001).

Penambahan enzim lisozim pada chitosan dapat menghidrolisis ikatan  $\beta$  (1,4) menjadi unit-unit penyusunnya yaitu N-Asetilglukosmin. Rumus struktur dari N-asetilglukosamin adalah  $C_8H_{15}NO_6$ . N-asetilglukosamin sangat berguna dalam bidang farmasi yaitu sebagai bahan baku pembuatan antibiotika. Berat molekul yang dimilikinya adalah 221,21 J/mol dan suhu yang digunakan untuk penyimpanan senyawa ini agar tetap dalam kondisi yang baik adalah dari 2 – 8 °C (Indra, Pinem, Sawariyanto, 2006).

Kolesterol sebenarnya merupakan salah satu komponen lemak. Lemak merupakan salah satu sumber energi yang memberikan kalori paling tinggi. Kolesterol dalam darah berasal dari 2 sumber yaitu diet atau kolesterol eksogen dan hasil sintesis dalam tubuh atau kolesterol endogen. Hanya sekitar 25-50 % kolesterol dari diet yang dapat diabsorpsi, selebihnya dibuang melalui tinja. Jika masukan kolesterol meningkat, sintesis kolesterol akan ditekan (Nurachmah, 2001).

Kolesterol juga merupakan bahan dasar pembentukan hormon – hormon steroid. Tetapi bila kolesterol dalam tubuh berlebih akan tertimbun di dalam dinding pembuluh darah dan menimbulkan suatu kondisi yang disebut aterosklerosis yaitu penyempitan atau pengerasan pembuluh darah. Kondisi ini merupakan cikal bakal terjadinya penyakit jantung dan stroke. Oleh karena itu kadar kolesterol dalam tubuh diharapkan menurun atau dalam ambang batas normal dan dalam penelitian ini terjadi penurunan kadar kolesterol dalam lemak kambing.

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### KESIMPULAN

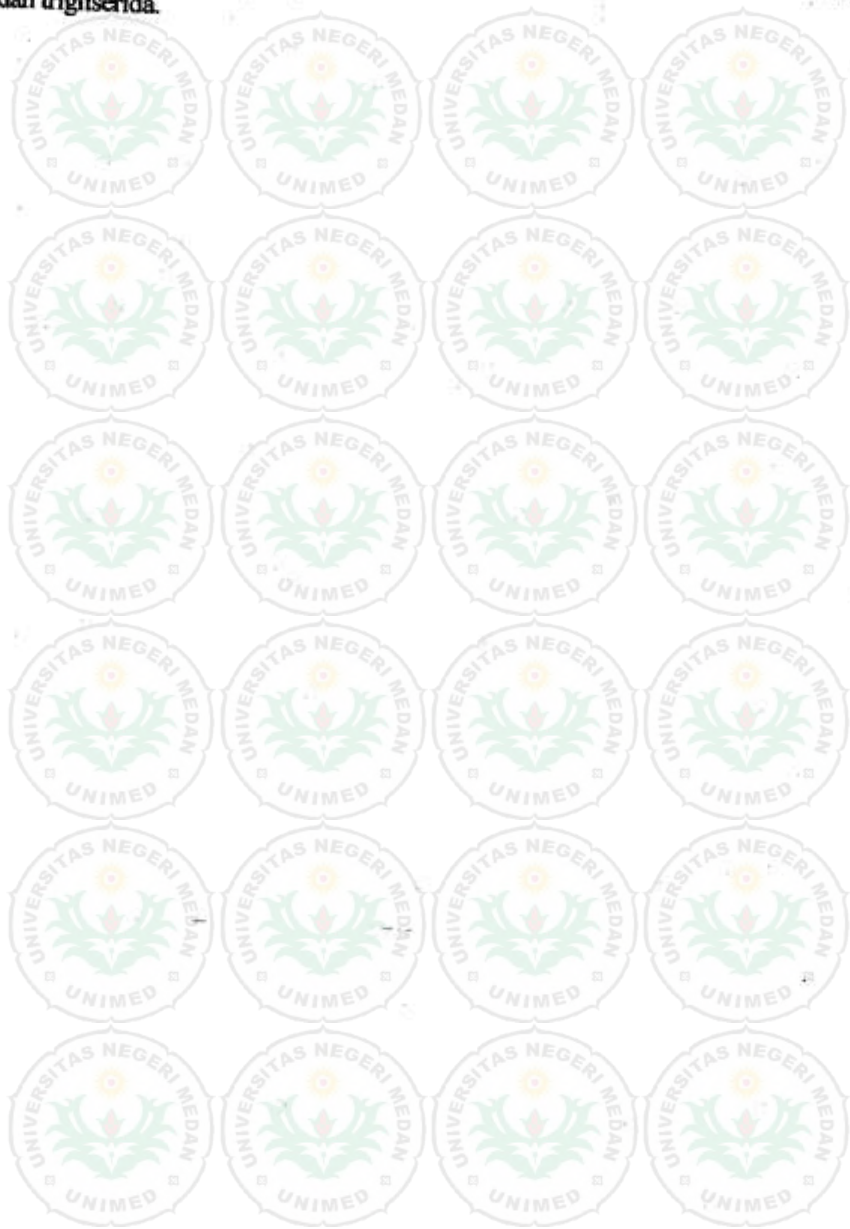
1. Pada perlakuan chitosan kulit keping, sebelum diberikan perlakuan kadar trigliserida yang didapat sebesar 56,6 mg/dl. Setelah diberikan kuning telur, kadar trigliserida pun meningkat menjadi 67,2 mg/dl (naik sebesar 15,77 %). Kemudian diberikan chitosan kulit keping, kadar trigliserida darah mencit menurun menjadi 54,1 mg/dl (turun sebesar 19,49 %). Ini membuktikan bahwa ada pengaruh pemberian chitosan kulit keping terhadap kadar trigliserida darah mencit (*Mus musculus*).
2. Kadar trigliserida darah mencit menurun setelah tidak ada lagi pemberian kuning telur dari 66,4 mg/dl menjadi 63,5 mg/dl (turun sebesar 4,5 %). Kadar trigliserida darah mencit menurun setelah adanya pemberian chitosan kulit keping dari 67,2 mg/dl menjadi 54,1 mg/dl (turun sebesar 19,49 %). Ada perbedaan kadar trigliserida darah mencit (*Mus musculus*) kontrol dan chitosan kulit keping. Dimana chitosan kulit keping lebih efektif menurunkan kadar trigliserida pada darah mencit.
3. Pemberian dosis 7 gr memberikan hasil yang lebih baik terhadap penurunan kadar kolesterol lemak kambing mula – mula dari pada dosis 5 gr, 6 gr, 8 gr, 9 gr dan 10 gr yaitu sebesar 37,241% kadar kolesterol menjadi 18,48 %.
4. Daya serap tertinggi chitosan kulit keping secara biodegradasi enzimatik terdapat pada perlakuan X<sub>3</sub> (7 gram) yaitu 50,358%, sedangkan yang terendah pada perlakuan X<sub>1</sub> (kontrol) yaitu 18,582%.

#### SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui kadar chitosan kulit keping maksimum yang dapat diberikan pada mencit (*Mus musculus*)
2. Supaya masyarakat umum dapat memanfaatkan chitosan kulit keping untuk mencegah dan menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida.
3. Penggunaan chitosan kulit keping secara biodegradasi enzimatik lebih digalakkan dalam masyarakat.



4. Perlu penelitian lebih lanjut untuk menganalisis kadar HDL dan LDL dalam lemak sapi dikarenakan analisis yang dilakukan hanya terhadap kadar kolesterol secara total dan trigliserida.



## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, (2003). Hasil Perikanan Sumatera Utara. Dinas Perikanan Sumatera Utara. Medan
- Brine, C.J. 1987. Introduction Chitin. Accomplishment and Perspectives. In Academic Press, Orlando.
- Baliwati, F., Yayuk, Khomsan, A. Dan Metidwiriani, C., (2004), *Pengantar Pangan dan Gizi*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Buckle, K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet dan M. Wootton, (1985), *Ilmu Pangan*, UI-Press, Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, (1989), *Kumpulan Peraturan Perundang-undangan Bidang Kesehatan*, Biro Hukum dan Hubungan Masyarakat DepKes RI, Jakarta.
- Desrosier, N.W., (1988), *Teknologi Pengawetan Pangan*, UI-Press, Jakarta.
- Gaman, P.M. dan Sherington, K.B., (1992), *Ilmu Pangan : Pengantar Ilmu Pangan Nutrisi dan Mikrobiologi*, Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Hawab. M., (2001), *Usaha Kepiting Tradisional*. Penerbit Swadaya, Jakarta.
- Hawab. M., (2001), Mengurangi Kolesterol dari Kulit Kepiting, *Republika* :19 (Dikutip dari Wahyuni, D., (2003), *Pengaruh Pemberian Tepung Kulit Kepiting Terhadap Kadar HDL (High Density Lipoprotein), LDL (Low Density Lipoprotein) dan TGC (Trigliserida) Darah Ayam Broiler*, Skripsi FMIPA UNIMED, Medan.)
- Indra, S., Eresina, D.P., dan Sawariyanto, (2006), Selamat Tinggal Formalin, *Majalah Gatra* 10:20-21.
- Kastyaanto, W.F.L., (1998), *Membuat Tahu*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Knorr, D. 1984. *Dye Binding Properties of Chitin and Chitosan*. Journal Food Science. 48: 31 - 33.
- Kurita, K. 1998. Chemistry and Application of Chitin and Chitosan. *Polym. Degrad. Stabil.* 59: 117-120.
- Majeti, N. V and Kumar, R. 2000. A Review of Chitin and Chitosan Applications. *Reactive Funct. Polym.*46: 1-27.
- Mulyanto, 1979. Perikanan Di Indonesia. Penerbit Puspawara, Malang

- Peter, M. G. 1995. Application and Environmental Aspect of Chitin and Chitosan. *Journal of Pure and Appl. Chem.* Vol VII.
- Rathke, T. D. dan S. M. Hudson. 1994. *Review of Chitin and Chitosan as Fiber and Film Formers, Revisi of Macromolecul.* Journal of Chemical Physics.
- Reagents, Chemicals, Diagnostics. Germany. Merck KGaA. 1996. hlm 185.
- Robert, G.A.F., 1992. Chitin Chemistry. The Macmillan Press LTD., London
- Shimaharu, K. dan Takiguchi, Y., 1988. *Methods Enzymol.* 161,417.
- Saito, H., R. Tabeta, K. Ogawa. 1987. Conformation of Chitosan, Its Metal Complexes, and Acvid Salt Revealed by Hight. Resolution Solid State C NMR. In Industrial Poly Saccarides. Yalpani, M. (Ed)
- Sinaga, M.S., (1993), *Analisa Zat Tambahan Makanan (Food Aditive) dan Cemaran Mikroba pada Makanan Sajian Anak – Anak SD di Kotamadya Medan*, Laporan Penelitian Universitas Sumatera Utara, USU Lembaga Penelitian, Medan.
- Sudarmadji, S.B., Haryono dan Suhardi, (1984), *Prosedur Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*, Liberty, Yogyakarta.
- Ukim, Suriadi dan Susanti, E., (2005), *Membuat Tahu Sumedang*, Agromedia Pustaka, Jakarta.



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL  
UNIVERSITAS NEGERI MEDAN**

Jl. Willem Iskandar Psr.V - Kotak Pos No. 1589 - Medan 20221 telp. (061) 6613265, 6613276, 6618754,  
Fax. (061) 6614002 - 6613319, Laman : www.Unimed.ac.id

**SURAT PERINTAH MULAI KERJA (SPMK)**

Nomor : 02024 JUN33.17/SPMK/2011

Tanggal : 21 Maret 2011

Pada hari ini Senin, tanggal dua puluh satu bulan Maret tahun Dua ribu sebelas, kami yang bertandatangan dibawah ini :

1. Drs. Wildansyah Lubis, M.Pd. : Berdasarkan Surat Keputusan Mendiknas R.I. Nomor : 783 / A. A3/KU/2011, tanggal 03 Januari 2011 tentang Pengangkatan Pejabat Pembuat Komitmen Dana Eks Pembangunan Unimed, bertindak untuk dan atas nama Rektor untuk selanjutnya dalam SPMK ini disebut sebagai : **PIHAK PERTAMA.**

2. Dra. Martina Restuati, M.Si : Dosen Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Medan, dalam hal ini bertindak untuk dan atas nama Ketua Peneliti. Rekening pada Bank BNI Cabang Medan No. A/C : 0068230312 untuk selanjutnya dalam SPMK ini disebut sebagai : **PIHAK KEDUA.**

Kedua belah pihak secara bersama-sama telah sepakat mengadakan Perjanjian Kerja dengan ketentuan sebagai berikut :

**PASAL 1  
JENIS PEKERJAAN**

PIHAK PERTAMA memberi Tugas kepada PIHAK KEDUA, dan PIHAK KEDUA menerima Tugas tersebut untuk melaksanakan Pekerjaan Penelitian Uji Agent Anti Kolesterol Chitosan Dari Kulit Kepiting Dengan Cara Biodegradasi Enzimatis yang menjadi tanggung jawab PIHAK KEDUA.

**PASAL 2  
DASAR PELAKSANAAN PEKERJAAN**

Pekerjaan dilaksanakan oleh PIHAK KEDUA atas dasar ketentuan yang merupakan bagian tidak terpisahkan dari SPMK ini, yaitu :

1. Sesuai dengan proposal yang diajukan
2. UU RI No. 17 Tahun 2003, tentang Keuangan Negara.
3. UU RI No. 1 Tahun 2004, tentang Perbendaharaan Negara
4. UU RI No. 15 Tahun 2004, tentang Pemeriksaan Pengelolaan dan Tanggungjawab Keuangan Negara

**PASAL 3  
PENGAWASAN**

Untuk Pelaksanaan Pengawasan dan Pengendalian Pekerjaan adalah Tim SPI Unimed dan Pejabat Pembuat Komitmen Dana Eks Pembangunan Unimed.

**PASAL 4  
NILAI PEKERJAAN**

PIHAK PERTAMA memberi dana pelaksanaan pekerjaan yang disebut pada pasal 1 tersebut sebesar Rp. 40.000.000,- (Empat puluh juta rupiah) termasuk pajak-pajak yang dibebankan kepada dana DIPA Unimed T.A. 2011 Nomor : 0649/023-04.2.01/02/2011, tanggal 20 Desember 2010.



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL**  
**UNIVERSITAS NEGERI MEDAN**

Jl. Willem Iskandar Psr.V - Kotak Pos No. 1589 - Medan 20221 telp. (061) 6613265, 6613276, 6618754,  
Fax. (061) 6614002 - 6613319. Laman : www.Unimed.ac.id

**PASAL 5**  
**CARA PEMBAYARAN**

Pembayaran dana pelaksanaan pekerjaan yang tersebut pada pasal 4 dilaksanakan secara bertahap, sebagai berikut :

1. Tahap I (Pertama) sebesar  $40\% \times 40.000.000,- = \text{Rp. } 16.000.000,-$  (Enam belas juta rupiah), dibayar sewaktu penyerahan Proposal dan Penandatanganan Surat Perintah Mulai Kerja (SPMK) oleh kedua belah pihak.
2. Tahap II (Kedua) sebesar  $30\% \times 40.000.000 = \text{Rp. } 12.000.000,-$  (Dua belas juta rupiah), dibayar setelah PIHAK KEDUA menyerahkan Laporan Kemajuan Pekerjaan dengan Bobot minimal 75 %. Dan menyerahkan bukti setor pajak (SSP) yang telah divalidasi Bank.
3. Tahap III (Ketiga) sebesar  $30\% \times 40.000.000 = \text{Rp. } 12.000.000,-$  (Dua belas juta rupiah), dibayar setelah PIHAK KEDUA menyerahkan Laporan Hasil Pekerjaan dengan Bobot 100%. Dan menyerahkan bukti setor pajak (SSP) yang telah divalidasi Bank.

**PASAL 6**  
**JANGKA WAKTU PELAKSANAAN**

1. Jangka waktu pelaksanaan Pekerjaan sampai 100 % yang disebut pada pasal 1 perjanjian ini ditetapkan selama 255 hari kalender terhitung sejak tanggal 21 Maret s/d 30 Nopember 2011.
2. Waktu Penyelesaian tersebut dalam ayat 1 Pasal ini tidak dapat dirubah oleh PIHAK KEDUA.

**PASAL 7**  
**LAPORAN**

1. PIHAK KEDUA harus menyampaikan naskah artikel hasil penelitian ke Lembaga Penelitian (Lemlit) dalam bentuk Hard Copy dan Softcopy dalam compact disk (CD) untuk diterbitkan pada Jurnal Nasional terakreditasi dan bukti pengiriman disertakan dalam laporan.
2. Sebelum laporan akhir penelitian diselesaikan, PIHAK KEDUA melakukan diseminasi hasil penelitian melalui forum yang dikoordinasikan oleh Pusat Penelitian yang sesuai dan pembiayaannya dibebankan kepada PIHAK KEDUA.
3. Seminar Penelitian dilakukan di jurusan/program studi dengan mengundang dosen dan mahasiswa sebagai peserta seminar serta diketahui oleh Pusat Penelitian.
4. Bahan dan laporan pelaksanaan Seminar dimaksud disampaikan ke Lembaga Penelitian Unimed sebanyak 2 (dua) eksemplar.
5. Peserta seminar terbaik dari setiap jurusan wajib menyeminarkan hasil penelitian di Lembaga Penelitian Unimed.
6. PIHAK KEDUA menyampaikan Laporan Akhir Pelaksanaan Pekerjaan kepada PIHAK PERTAMA sebanyak 4 (Empat) eksemplar yang akan didistribusikan kepada :
  - 1) PIHAK PERTAMA sebanyak 1 (Satu) eksemplar (ASLI)
  - 2) Kantor SPI Unimed sebanyak 1 (Satu) eksemplar.
  - 3) Kantor LEMLIT 2 (Dua) Eksemplar
7. PIHAK KEDUA wajib menyampaikan Laporan Realisasi Penggunaan Dana Pelaksanaan Pekerjaan Penelitian Kepada PIHAK PERTAMA

**PASAL 8**  
**SANKSI**

1. Apabila PIHAK KEDUA tidak dapat menyelesaikan pekerjaan sesuai dengan jangka waktu pelaksanaan yang tercantum dalam pasal 6 perjanjian ini, maka untuk setiap hari keterlambatan PIHAK KEDUA wajib membayar

Handwritten signature/initials.

Handwritten signature/initials.



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL  
UNIVERSITAS NEGERI MEDAN**

Jl. Willem Iskandar Psr.V – Kotak Pos No. 1589 – Medan 20221 telp. (061) 6613265, 6613276, 6618754.  
Fax. (061) 6614002 – 6613319, Laman : www.Unimed.ac.id

- denda keterlambatan sebesar 1 %/oo perhari dengan maksimum denda sebesar 5 % dari nilai pekerjaan yang disebut pada pasal 4.
2. Apabila pelaksana Pekerjaan melalaikan kewajibannya baik langsung atau tidak langsung yang merugikan keuangan negara diwajibkan mengganti kerugian dimaksud.

**PASAL 9  
PENUTUP**

Surat Perintah Mulai Kerja (SPMK) ini dibuat rangkap 4 (Empat) dengan ketentuan sebagai berikut :

- 1 (satu) lembar pada : Kantor Dana Eks Pembangunan Unimed.
- 1 (satu) lembar pada : Ketua Peneliti
- 1 (satu) lembar pada : Kantor Pelayanan dan Perbendaharaan Negara (KPPN) Medan.
- 1 (satu) lembar pada : Kantor SPI Unimed.

Demikian Surat Perintah Mulai Kerja (SPMK) ini diperbuat untuk diketahui dan dilaksanakan sebagaimana mestinya.

**PIHAK KEDUA :**  
Ketua Peneliti

Dra. Martina Restuati, M.Si  
NIP. 196303211988032002

**PIHAK PERTAMA :**  
Pejabat Pembuat Komitmen  
Dana Eks Pembangunan Unimed.

Drs. WILDANSYAH LUBIS, M.Pd.  
NIP. 19581111198601 1 001