

KAJIAN PENGHAMBATAN DEPOLIMERISASI PADA PROSES DEASETILASI KITIN MENGUNAKAN EDTA

Study of Depolymerization Inhibition on Deacetylation Process of Chitin Using EDTA

Ahmad Budi Junaidi, Randy Saputra, Azidi Irwan

Program Studi Kimia FMIPA Universitas Lambung Mangkurat

Jl. A. Yani Km 36 Banjarbaru, Kalimantan selatan

Email: a_budi_j@yahoo.co.id

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang kajian penghambatan depolimerisasi pada proses deasetilasi kitin menggunakan EDTA. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati pengaruh temperatur deasetilasi serta mengamati pengaruh penambahan EDTA dalam proses deasetilasi kitin terhadap berat molekul dan derajat deasetilasi kitosan. Temperatur deasetilasi dibuat dengan variasi 80°C, 100°C, dan 120°C dengan waktu yang sama yaitu 2 jam. Untuk mengetahui proses penghambatan depolimerisasi digunakan EDTA dengan penambahan 5%, 10%, 15% (b/v). Derajat deasetilasi kitosan ditentukan berdasarkan metode FTIR dengan menggunakan *baseline* a dan b, sedangkan berat molekul kitosan diperoleh dengan menggunakan metode viskometri. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa peningkatan temperatur yaitu 80°C dan 100°C menyebabkan peningkatan derajat deasetilasi dan berat molekul kitosan, akan tetapi pada temperatur 120°C mengalami penurunan berat molekul dan derajat deasetilasi yang mengindikasikan terjadinya proses depolimerisasi dan putusya gugus asetil amida. Penambahan EDTA pada proses deasetilasi mampu menghambat oksidasi yang merupakan penyebab utama terjadinya depolimerisasi dan penurunan berat molekul pada kitosan

Kata Kunci: derajat deasetilasi, berat molekul, deasetilasi kitin, depolimerisasi kitosan, EDTA

ABSTRACT

Research of depolymerization inhibition on chitin deacetylation process using EDTA has been done. The aims of this study is to observe the effect of temperature deacetylation and observe the effect of adding EDTA in the process of deacetylation of chitin to the molecular weight and degree of deacetylation chitosan. Deacetylation temperature variation is made with 80°C, 100°C, 120°C with the same time is 2 hours. To know the process used depolymerization inhibition by EDTA with the addition of 5%, 10%, 15% (w/v). Deacetylation degree of chitosan was determined by FTIR using baseline method, whereas the molecular weight of chitosan obtained by using the viscometry method. based on the result, it was found that the increase in temperature of 80°C and 100°C led to an increase in the degree of deacetylation and molecular weight of chitosan, but the temperature of 120°C decreased molecular weight and degree of deacetylation which indicates the occurrence of rupture depolymerization and amide acetyl group. Addition of EDTA in the process of deacetylation is capable of preventing oxidation is a major cause depolymerization and decrease in molecular weight chitosan.

Keywords: degree of deacetylation, molecular weight, chitosan depolymerization, deacetylation of chitin, EDTA

PENDAHULUAN

Kitosan ditemukan pertama kali oleh Rouget pada tahun 1859. Kitosan adalah hasil deasetilasi kitin yang merupakan biopolimer alam yang tiap tahunnya dihasilkan 100 trilyun ton oleh *crustacea*, *mollusca*, insekta, fungi dan diperkirakan kelimpahannya paling banyak nomor dua setelah selulosa. Dewasa ini, kitosan telah banyak menarik perhatian para peneliti baik dalam penelitian dasar maupun penelitian aplikasi. Penelitian tersebut meliputi bidang biologi, biokimia, kimia organik, polimer, farmakologi, dan obat-obatan. Sejumlah publikasi dan paten meningkat secara tajam. Berdasarkan pada sifat hidrofilik, reaktifitas kimia, kesanggupan membentuk film dan sifat mekanik yang baik, maka kitosan merupakan bahan yang baik untuk digunakan dalam berbagai bidang aplikasi (Kaban, 2009).

Proses deasetilasi merupakan proses penghilangan gugus asetil dari rantai molekul kitin. Proses ini menghasilkan senyawa kitosan yang memiliki gugus amina ($-NH_2$) yang relatif lebih reaktif. Hal ini yang menyebabkan derajat deasetilasi merupakan sifat fisikokimia kitosan yang penting dalam berbagai aplikasi kitosan tersebut (Kim, 2004). Preparasi kitosan melalui proses kimia juga memiliki kelemahan yang

terkait dengan derajat polimerisasi kitosan yang dihasilkan. Proses kimia mengakibatkan terjadinya pemutusan rantai polimer secara acak sehingga berat molekul kitosan dapat terdistribusi luas dari ukuran kecil hingga yang berukuran besar (Meidina *et al.*, 2006).

Derajat deasetilasi dan berat molekul kitosan hasil deasetilasi kitin pada dasarnya dipengaruhi oleh konsentrasi alkali/basa, rasio larutan terhadap padatan, suhu dan waktu reaksi, lingkungan/kondisi reaksi selama deasetilasi (Ramadhan *et al.*, 2010). Hasil penelitian Kim (2004) dan Methacanon *et al.* (2003) dalam Champagne (2008) menunjukkan bahwa peningkatan temperatur reaksi berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan berat molekul kitosan, sedangkan konsentrasi NaOH dan waktu reaksi tidak berpengaruh secara signifikan terhadap terjadinya depolimerisasi kitosan.

Hasil penelitian regenerasi NaOH pada proses deasetilasi signifikan meningkatkan derajat deasetilasi (Yaghobi, 2003). Dengan demikian perlu adanya metode preparasi yang tepat untuk menghasilkan seri kitosan dengan variasi berat molekul (BM) dan derajat deasetilasi (DD) yang memiliki sifat fisiko-kimia yang memenuhi syarat berbagai aplikasi. Rahmadani (2010), melakukan

proses regenerasi larutan NaOH terhadap derajat deasetilasi dan berat molekul kitosan pada proses deasetilasi kitin secara bertahap. Regenerasi larutan NaOH pada proses deasetilasi kitin menyebabkan peningkatan derajat deasetilasi kitosan dan mengakibatkan berat molekul kitosan yang dihasilkan tidak seragam, sehinggamengakibatkan pemborosan larutan NaOH yang dipakai.

Kitosan mempunyai sifat spesifik yaitu adanya sifat bioaktif, biokompatibel, pengkhelet, anti bakteri dan dapat terbiodegradasi. Kualitas kitosan dapat dilihat dari sifat intrinsiknya, yaitu kemurniannya, berat molekul, dan derajat deasetilasi. Untuk keperluan penelitian, beberapa peneliti membuat satu seri kitosan dengan derajat deasetilasi yang relatif sama tetapi berat molekulnya bervariasi. Seri kitosan tersebut dapat dipreparasi dengan depolimerisasi kitosan menggunakan CH_3COOH 5% (Liu *et al*, 2006) atau HCl 2,5 N (Rege & Block, 1999). Sebaliknya, satu seri kitosan dengan derajat deasetilasi yang bervariasi tetapi berat molekulnya relatif sama dapat dilakukan dengan meminimalisasi pemutusan gugus asetil amida dan depolimerisasi rantai polimer pada saat N-deasetilasi dengan memberikan perlakuan penambahan EDTA(Lim, 2002).

Proses penghambatan depolimerisasi kitin menggunakan EDTA karena sifatnya yang larut air, paling stabil secara elektronik dan secara geometri, mempunyai struktur geometri yang longgar. Selain itu EDTA dikenal dapat membentuk khelat yang stabil dengan ion logam dan mempunyai kapasitasadsorpsi dalam kitosan tigasampai empat kalilebih tinggi dibandingkan dengan agent pengkhelet lain. Oleh karena itu, EDTA dapat berfungsi sebagai penghambat oksidasi dalam proses deasetilasi kitin sehingga dapat mengurangi depolimerisasi dan putusnya gugus asetil amida. Dari penelitian ini diharapkan mendapatkan seri kitosan dengan derajat deasetilasi yang bervariasi tetapi berat molekulnya relatif sama.

Peningkatan suhu dan lama perendaman dalam NaOH mengakibatkan derajat deasetilasi meningkat. Suhu dan lama perendaman NaOH berpengaruh terhadap pemecahan rantai molekul kitin. Penggunaan suhu yang terlalu tinggi (di atas 150°C) menyebabkan pemecahan ikatan polimer (depolimerisasi) rantai molekul kitosan sehingga menurunkan berat molekul kitosan. Sedangkan pada suhu dibawah 100°C , pemutusan gugus asetil tidak berlangsung sempurna dan

membutuhkan waktu lebih lama (Johson, 1982 dalam Rochima, 2005).

Peningkatan harga derajat deasetilasi merupakan fungsi peningkatan dari

konsentrasi NaOH, temperatur reaksi dan waktu reaksi seperti yang terlihat dalam Tabel1.

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi NaOH, rasio kitin/NaOH, temperatur, dan waktu terhadap derajat deasetilasi kitosan

Rasio kitin/larutan	Konsentrasi NaOH (% (b/v))	Temperatur (°C)	Waktu (menit)	Derajat Deasetilasi (%)	
1 : 20	20	100	15	21,6	
			120	22,8	
1 :10	40	40	15	21,6	
			120	43,3	
			60	34,8	
		60	52,4		
		120	68,0		
		80	56,7		
	60	70,9			
	120	84,0			
	100	60	73,6		
	120	60	88,7		
	60	60	40	120	27,5
			60	120	70,7
80			45	84,2	
60			60	90,2	
120			60	94,7	
100			30	94,0	
			60	97,3	

Sumber : Methacanon *et al.* (2003) dalam Champagne (2008).

Berat molekul kitosan yang diperoleh secara kimiawi ditentukan oleh proses deasetilasi dan depolimerisasi. Hasil penelitian Kim (2004) menunjukkan bahwa peningkatan temperatur reaksi memiliki pengaruh yang signifikan terhadap penurunan berat molekul kitosan, sedangkan konsentrasi NaOH dan waktu reaksi tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap terjadinya depolimerisasi, namun kelarutan oksigen

yang tinggi akan meningkatkan depolimerisasi rantai kitosan. Beberapa peneliti meminimalisasi depolimerisasi pada saat deasetilasi dengan memberikan perlakuan nitrogen (Mirzadeh *et al.*, 2002), penambahan EDTA atau NaBH₄ (Lim, 2002). Hasil penelitian Methacanon *et al.*, 2003 (Champagne, 2008), seperti yang terlihat dalam Tabel 2, menunjukkan bahwa peningkatan temperatur reaksi,

berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan berat molekul kitosan, sedangkan konsentrasi NaOH dan waktu

reaksi tidak berpengaruh secara signifikan terhadap terjadinya depolimerisasi kitosan

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi NaOH, temperatur dan waktu refluks pada proses deasetilasi terhadap berat molekul kitosan

Kondisi	Berat Molekul (x 10 ⁵ Da)
40% NaOH, 80 °C, 120 menit	8,74
40% NaOH, 100 °C, 60 menit	4,58
60% NaOH, 80 °C, 60 menit	10,9
60% NaOH, 80 °C, 120 menit	8,87
60% NaOH, 100 °C, 60 menit	4,53
60% NaOH, 100 °C, 120 menit	3,22

Sumber: Methacanon *et al.* (2003) dalam Champagne (2008)

METODE PENELITIAN

Deasetilasi Kitin untuk Menghasilkan Kitosan

Serbuk kitin dimasukkan ke labu gelas leher tiga yang dilengkapi dengan termometer dan pengaduk magnetik. Larutan NaOH 60% dimasukkan ke dalam labu dengan perbandingan 1:10 (b/v). Labu ditaruh dalam penangas air yang diletakkan di atas *hotplate* yang mempunyai pengatur kecepatan putar terhadap magnet stirer yang telah dimasukkan dalam labu. Deasetilasi kitin menjadi kitosan dilakukan selama 2 jam, dengan dilakukan proses deasetilasi pada suhu 80°C (kitosan A), 100°C (kitosan B) dan 120°C (kitosan C). Setelah itu larutan disaring dan dicuci dengan akuades sampai pH netral. Residu dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C. Residu hasil pengeringan berupa kitosan. Untuk mengetahui proses penghambatan depolimerisasi pada proses deasetilasi kitin menggunakan EDTA, maka dilakukan proses deasetilasi kitin menjadi

kitosan yang dilakukan selama 2 jam dan suhu 120°C (kitosan C) dengan penambahan EDTA 5% (b/v) (kitosan C1), 10% (b/v) (kitosan C2), 15% (b/v) (kitosan C3).

Analisis Kadar Nitrogen Kitin dan Kitosan

Kadar nitrogen kitin dan kitosan ditentukan berdasarkan metode Kjeldahl. Sebanyak 1 gram serbuk kitin/kitosan dimasukkan ke dalam labu destruksi. Sebanyak 10 ml asam sulfat pekat dan 1 gram selenium ditambahkan ke dalam labu destruksi. Destruksi dilakukan dengan pemanas listrik hingga larutan sampel menjadi agak jernih. Larutan hasil destruksi dimasukkan ke dalam labu distilasi Kjeldahl. Distilasi dilakukan dengan menambahkan NaOH 60% (b/v) dan uap air (dari labu *steam*) ke dalam labu distilasi Kjeldahl. Hasil distilasi dialirkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 25 ml asam borat dan beberapa tetes indikator. Destilat yang dihasilkan kemudian dititrasi dengan HCl.

Penentuan Berat Molekul (BM) Kitosan

Berat molekul kitosan ditentukan berdasarkan metode viskometri. Kitosan dilarutkan dalam 20 ml larutan 0,1 M CH_3COOH dan 0,2 M NaCl sehingga diperoleh larutan kitosan dengan konsentrasi bervariasi : 0; 0,025; 0,050; 0,075; 0,100; 0,150 dan 0,200% (b/v). Masing-masing larutan kitosan dimasukkan ke dalam viskometer dan diukur laju alirnya pada temperatur konstan (viskometer dicelupkan dalam air sehingga temperatur larutan konstan 25°C).

Penentuan Derajat Deasetilasi (DD) Kitin dan Kitosan

Gugus fungsional dan derajat deasetilasi kitin dan kitosan ditentukan dengan menggunakan metode spektrofotometri inframerah. Serbuk kitin dan kitosan dianalisis dalam bentuk pelet dengan KBr yang dibuat dengan mencampurkan 2,5 mg sampel dan 250 mg KBr. Pelet dianalisis serapan gugus-gugusnya pada rentang bilangan gelombang dari 4000 cm^{-1} - 400 cm^{-1} . Untuk menentukan DD digunakan metode garis oleh Domszy dan Robert.

Penentuan Kadar Air dan Kadar Abu Kitin dan Kitosan

Kadar air dan kadar abu (mineral) serbuk kitin dan kitosan ditentukan dengan metode analisis gravimetri. Sebanyak 1 gram serbuk sampel (kitin atau kitosan) dimasukkan ke dalam cawan porselin kering yang telah diketahui massanya. Serbuk sampel dan cawan porselin ditimbang untuk

mengetahui massa awal sampel tersebut. Cawan porselin yang telah berisi sampel dimasukkan ke dalam oven dengan temperatur 80°C. Cawan yang berisi sampel tersebut ditimbang setiap jam hingga diperoleh massa yang konstan. Analisis kadar mineral cangkang udang, kitin dan kitosan dilakukan dengan memasukkan cawan porselin yang berisi sampel setelah analisis kadar air ke dalam tungku pemanas dengan temperatur 600°C. Sampel ditimbang setiap 1 jam hingga massanya konstan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan dalam proses deasetilasi adalah kitin dari kulit udang pink (*Penaeus duorarum*) berupa lembaran-lembaran kecil berwarna putih. Oleh karena itu, sebelum dilakukan proses deasetilasi, sampel yang berupa kitin tersebut harus dihaluskan terlebih dulu dan diloloskan pada ayakan sebesar 60 mesh.

Proses deasetilasi dilakukan dengan menggunakan larutan NaOH 60% dengan perbandingan 1:10 (b/v) terhadap kitin. Alat yang digunakan berupa labu leher tiga yang dilengkapi termometer dan pengaduk magnetik, alat tersebut dirangkaikan dengan alat pendingin berupa spiral ulir dan dihubungkan dengan penangas air yang diletakkan di atas *hotplate* yang mempunyai pengatur kecepatan putar terhadap magnet stirrer yang telah dimasukkan dalam labu. Alat dirangkai dengan meminimalisir masuknya udara untuk mencegah terjadinya oksidasi.

Selama proses deasetilasi tanpa penambahan EDTA berlangsung, terjadi pemutusan gugus asetil pada kitin dan membuat kitin menjadi kitosan oleh NaOH. Peningkatan suhu dan lamanya waktu perendaman kitin di dalam NaOH membuat semakin banyak gugus asetil terputus dari struktur kitin dan membentuk NH_2 . Hal ini sesuai dengan data yang diperoleh, yaitu pada suhu 80°C dan 100°C , akan tetapi pada suhu 120°C terjadi pemecahan ikatan polimer (depolimerisasi) serta putusnya gugus asetil amida yang menyebabkan turunnya berat molekul kitosan tersebut. Dengan melakukan penambahan EDTA pada proses deasetilasi kitin menjadi kitosan dengan waktu 2 jam dan suhu 120°C , maka dapat dicegah proses depolimerisasi dan pemutusan gugus asetil amida karena EDTA adalah sifatnya yang larut air dan pembentuk khelat yang stabil dengan ion logam yang ada di kitin, yang kita ketahui bahwa ion logam merupakan katalis oksidasi sehingga membentuk ikatan yang kuat dan dapat memperlambat proses oksidasi yang menjadi penyebab depolimerisasi serta dapat mempertahankan kestabilan rantai kitosan pada suhu tinggi.

Tabel 3. Rendemen proses deasetilasi

Proses Deasetilasi	sampel (gram)	Hasil (gram)	Rendemen (%) (b/b)
Kitosan A	5	4,2692	85,4
Kitosan B	5	4,2662	84,3
Kitosan C	5	3,9497	78,9
Kitosan C1	5	4,1958	83,9
Kitosan C2	5	4,2293	84,6
Kitosan C3	5	4,0689	81,4
Total			83,3

Sumber: Data primer yang diperoleh

Berdasarkan Tabel 3, rendemen yang diperoleh ketiga jenis kitosan hasil proses deasetilasi dengan penambahan EDTA baik 5%, 10%, dan 15% tersebut relatif sama dengan rata-ratanya adalah 83,26% (b/b). Hal ini mengindikasikan bahwa proses penghambatan depolimerisasi dan pemutusan gugus asetil amida berjalan dengan baik.

Semakin besar konsentrasi, suatu reaksi akan berlangsung semakin cepat. semakin tinggi konsentrasi NaOH menyebabkan DD kitosan semakin tinggi menunjukkan gugus asetil yang lepas dari struktur polimer kitin semakin banyak. Dalam suatu reaksi, frekuensi tumbukan meningkat seiring meningkatnya suhu sehingga diharapkan suhu dapat mempercepat suatu reaksi kimia. Demikian pula dalam reaksi deasetilasi kitin, semakin tinggi suhu proses deasetilasi, kemungkinan gugus asetil yang akan tersubstitusi menjadi gugus amina semakin besar juga. Hubungan antara waktu dan DD kitosan menunjukkan bahwa semakin lama waktu proses deasetilasi menyebabkan DD kitosan semakin tinggi. Hal ini disebabkan semakin lama waktu reaksi hidrolisis kitin, gugus asetil yang tersubstitusi menjadi gugus amina semakin banyak sehingga DD kitosan semakin tinggi.

Derajat deasetilasi adalah suatu parameter mutu yang menunjukkan gugus asetil yang dapat dihilangkan dari rendemen kitosan.

Tabel 4. Hasil perhitungan derajat deasetilasi kitin dan kitosan

No	Sampel	Baseline	Baseline
		a	b
		DD a (%)	DD b (%)
1.	Kitin	49,53	79,27
2.	Kitosan 80°C	51,38	81,44
3.	Kitosan 100°C	63,42	88,82
4.	Kitosan 120°C	63,77	86,36
5.	Kitosan EDTA 5%	61,92	86,17
6.	Kitosan EDTA 10%	61,74	87,24
7.	Kitosan EDTA 15%	69,89	91,11

Sumber: Data primer yang diperoleh

Semakin tinggi derajat deasetilasi kitosan, maka gugus asetil yang terdapat dalam kitosan tersebut semakin sedikit (Knoor, 1982 dalam Rochima, 2005). Berdasarkan Tabel 4 penghilangan gugus asetil (deasetilasi) dari kitin dengan menambahkan larutan natrium hidroksida pekat (60%) pada suhu 80°C, 100°C, 120°C selama dua jam. Suhu akan mempengaruhi laju deasetilasi. Semakin tinggi suhu yang digunakan, laju deasetilasi akan semakin cepat. Hal ini disebabkan gugus fungsional amina ($-NH_3^+$) yang mensubstitusi gugus asetil kitin di dalam sistem larutan semakin aktif, maka semakin sempurna proses deasetilasi (Arluis, 1989). Meskipun kenaikan suhu dapat menghasilkan harga DD semakin tinggi, tetapi untuk suhu 120°C harga DD turun. Hal ini disebabkan kecepatan reaksi naik dengan bertambahnya temperatur (sesuai dengan hukum Arrhenius) tetapi apabila suhu terlalu tinggi akan terjadi depolimerisasi rantai kitosan sehingga dapat menurunkan berat molekul kitosan. Selain itu, pada proses deasetilasi pada suhu 120°C tidak hanya terjadi proses putusanya gugus asetil akan

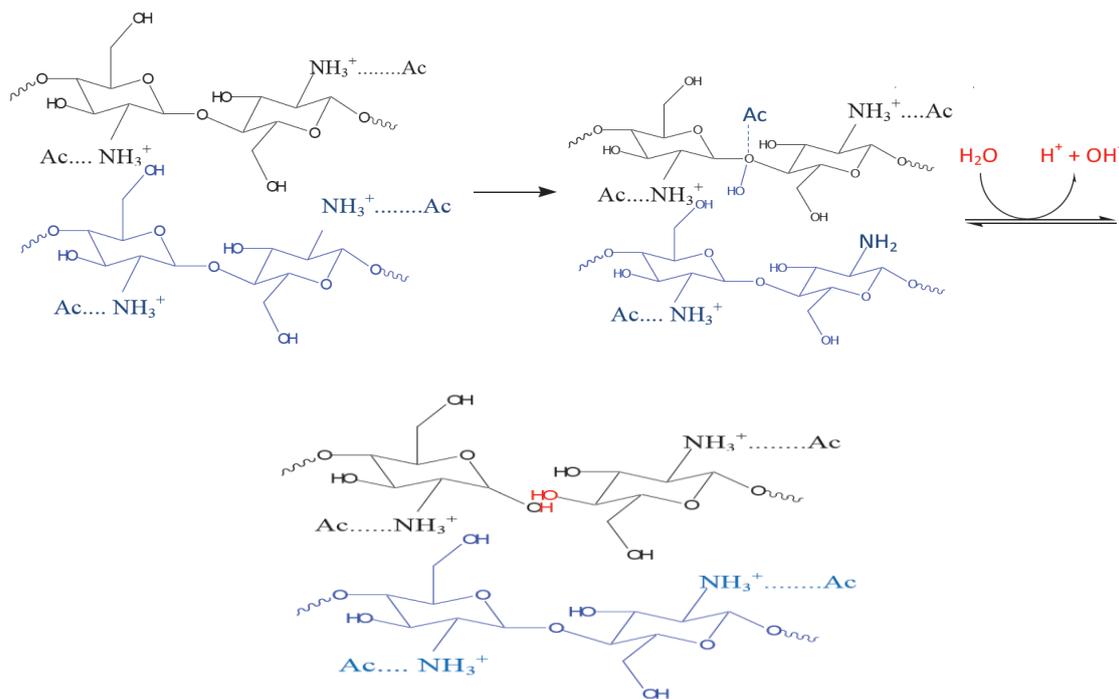
tetapi putusanya gugus asetil amida yang mengindikasikan sebagai penyebab utama turunnya harga DD pada kitosan 120°C.

Berdasarkan hasil perhitungan, terdapat perbedaan antara derajat deasetilasi yang diperoleh berdasarkan *baseline* a dan *baseline* b, walaupun demikian kedua *baseline* ini tetap menggambarkan adanya perbedaan derajat deasetilasi kitosan hasil deasetilasi dengan variasi suhu. Kitosan proses deasetilasi 80°C (kitosan A) dan 100°C (kitosan B) mempunyai derajat deasetilasi yang terlihat meningkat. Sedangkan kitosan proses deasetilasi 120°C (kitosan C) mempunyai derajat deasetilasi yang lebih kecil dibanding kitosan B dikarenakan kitosan C mengalami proses depolimerisasi dan pemutusan gugus asetil amida sehingga terjadi pemutusan rantai kitosan dan berpengaruh pada penurunan berat molekul kitosan tersebut. Hal ini dikuatkan berdasarkan Tabel 3 yang memperlihatkan kesesuaian antara data rendemen dan data DD yang diperoleh, yaitu terjadi peningkatan yang signifikan terhadap derajat deasetilasi dari kitosan A dan B, akan tetapi kitosan C mengalami depolimerisasi dan putusanya gugus asetil amida yang menyebabkan berat molekulnya rendah, sesuai dengan hasil penelitian Ramadhan, *et al* (2004) dan Junaidi (2009) yang menyatakan bahwa terjadinya proses depolimerisasi kitosan pada proses deasetilasi lebih disebabkan pada peningkatan suhu dan lamanya reaksi.

Kajian utama dalam penelitian ini adalah meminimalisasi depolimerisasi pada saat deasetilasi kitosan dengan melakukan penambahan EDTA sebanyak 5%, 10%, dan 15% pada suhu 120°C selama 2 jam yang bertujuan untuk mendapatkan seri kitosan dengan derajat deasetilasi yang bervariasi tetapi berat molekulnya relatif sama. Berat molekul kitosan dapat menentukan kelarutannya. Dengan demikian kita dapat menambah daya guna kitosan untuk diaplikasikan dalam berbagai bidang ilmu.

Proses penghambatan depolimerisasi kitin menggunakan EDTA dilakukan karena

mudah ditemukan dalam keadaan murni, selain itu sifatnya yang larut air, paling stabil secara elektronik dan secara geometri, mempunyai struktur geometri yang longgar, dan kereaktifan H^+ nya yang lebih kecil dibandingkan air. Selain itu EDTA dikenal dapat membentuk kela yang stabil dengan ion logam dan mempunyai kapasitas adsorpsi dalam kitosan tiga sampai empat kali lebih tinggi untuk ion $Co(II)$ dan $Ni(II)$. Oleh karena itu, EDTA sangat cocok dijadikan pelindung kitin dalam proses deasetilasi dan dapat mencegah pemutusan gugus asetil amida dan depolimerisasi akibat proses oksidasi.



Gambar 1. Proses Depolimerisasi Kitosan (Berth, 1998)

Berdasarkan Gambar 1 terjadi pemutusan ikatan antara karbon dengan nitrogen pada gugus asetil kitin tersubstitusi menjadi gugus amina pada proses deasetilasi kitin menjadi kitosan oleh OH^- yang didapatkan dari penambahan $NaOH$.

Setiap monomer kitosan dihubungkan oleh atom oksigen (jembatan eter) yang mempunyai dua pasang elektron bebas dan memungkinkan menempelnya suatu unsur atau senyawa yang bermuatan positif dan mempunyai sisi kosong pada orbitalnya.

Pada proses deasetilasi kitin menjadi kitosan, gugus asetil bermuatan positif yang terlepas sangat memungkinkan menempel dan menyebabkan jembatan eter yang netral menjadi bermuatan positif. Oleh karena itu, jembatan eter pada kitosan dapat diserang oleh OH^- berlebih pada saat deasetilasi dan menyebabkan depolimerisasi kitosan. Untuk mencegah hal itu, EDTA selain dapat mengkhelat logam yang ada pada kitin juga dapat menangkap gugus asetil yang terlepas selama proses deasetilasi.

Proses penghambatan depolimerisasi pada proses deasetilasi kitin menggunakan EDTA dilakukan selama 2 jam dan suhu 120°C (kitosan C) dengan pertimbangan bahwa pada keadaan ini terjadi proses depolimerisasi dan putusnya gugus asetil amida yang disebabkan oleh tingginya suhu deasetilasi. Penambahan EDTA pada proses deasetilasi sebanyak 5% (b/v) (kitosan C1), 10% (b/v) (kitosan C2), 15% (b/v) (kitosan C3). EDTA dimasukkan kedalam labu leher tiga sejak dari awal proses. Selama proses deasetilasi dilakukan pengadukkan menggunakan batang magnet pengaduk yang dimaksudkan berfungsi mempercepat proses deasetilasi. EDTA yang ditambahkan kedalam labu sedikit demi sedikit larut di dalam larutan NaOH 60%. EDTA menggunakan enam pasangan elektron yang ada pada strukturnya yang mampu berikatan koordinasi pada gugus asetil dan ion logam, dalam hal ini ion EDTA membungkus sepenuhnya disekitar logam sehingga proses oksidasi yang menjadi penyebab utama

depolimerisasi dan putusnya gugus asetil kitosan berjalan lambat.

Penentuan berat molekul pada penelitian ini menggunakan metode viskometri. Viskositas dari sampel kitosan diukur dalam pelarut tertentu. Data waktu alir digunakan untuk menghitung viskositas relatif, viskositas reduksi dan kemudian digunakan untuk menghitung viskositas intrinsik, $[\eta]$ (dengan membuat regresi linear dari viskositas reduksi versus konsentrasi). Berat molekul dihitung dari persamaan Mark-Houwink. Metode viskometri ini menggunakan viskometer Ubbelohde (Schott). Pelarut kitosan yang digunakan adalah 0,1 M asam asetat dan 0,2 M NaCl. Masing-masing sampel kitosan dilarutkan dalam pelarut ini dengan konsentrasi bervariasi antara 0,025 – 0,2%. Viskositas intrinsik, $[\eta]$ kitosan ditentukan dengan membuat grafik η_{sp}/C versus C berdasarkan persamaan Huggins. Dimana $[\eta]$ kitosan merupakan harga intersep, dan slope grafik berharga $k'[\eta]^2$, sehingga harga konstanta Huggins, k' dapat ditentukan. Konversi viskositas intrinsik kitosan menjadi berat molekul menggunakan persamaan Mark-Houwink (Persamaan 2.13), dimana K dan α adalah konstanta yang besarnya tergantung konsentrasi kitosan, jenis dan konsentrasi pelarut serta temperatur larutan (James *et al.*, 2005). Harga K dan α untuk keadaan penelitian ini masing-masing adalah $1,81 \times 10^{-8} \text{ cm}^3/\text{gram}$ dan 0,930 (Fouda, 2005).

Tabel 5. Hasil perhitungan berat molekul kitin dan kitosan

No	Sampel	BM (Dalton)
1.	Kitosan 80°C (A)	-
2.	Kitosan 100°C (B)	2,31425 x 10 ⁵
3.	Kitosan 120°C (C)	1,12715 x 10 ⁵
4.	Kitosan EDTA 5% (C1)	2,70992 x 10 ⁵
5.	Kitosan EDTA 10% (C2)	2,86605 x 10 ⁵
6.	Kitosan EDTA 15% (C3)	3,00985 x 10 ⁵

Sumber: data primer yang diperoleh

Berdasarkan Tabel 5, berat molekul kitosan A tidak terukur dikarenakan kitosan A tidak dapat larut sempurna pada pelarutnya yaitu 0,1 M asam asetat dan 0,2 M NaCl. Banyaknya gugus asetil yang belum terlepas pada rantai kitosan A (DD kitosan A rendah) menyebabkan kitosan A sukar larut (lihat Tabel 5). Oleh karena itu kita hanya dapat membandingkan berat molekul kitosan B dengan kitosan C. Pada Tabel 5 terjadi penurunan berat molekul yang cukup berarti antara kitosan B dengan kitosan C. Penurunan berat molekul ini diduga disebabkan kitosan mengalami depolimerisasi dan putusnya gugus asetil amida pada saat peningkatan suhu deasetilasi sebesar 120°C. Selain akibat peningkatan suhu deasetilasi, depolimerisasi juga disebabkan kelarutan oksigen yang tinggi. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Champagne (2008), yang menyatakan bahwa terjadinya depolimerisasi kitosan pada reaksi deasetilasi lebih disebabkan oleh peningkatan suhu dan lamanya reaksi serta menurut Kim (2004) menyatakan bahwa peningkatan temperatur reaksi dan tingginya kelarutan oksigen pada proses deasetilasi memiliki pengaruh yang signifikan terhadap

terjadinya depolimerisasi. Penurunan berat molekul kitosan berpengaruh terhadap karakter kitosan yang dihasilkan dan menyebabkan pembatasan aplikasi kitosan dalam berbagai bidang ilmu. Oleh karena itu untuk meminimalisasi hal tersebut, pada penelitian ini dilakukan penambahan EDTA sebanyak 5%, 10%, dan 15% pada proses deasetilasi dengan suhu 120°C selama 2 jam.

Berdasarkan Tabel 5 pada saat penambahan EDTA, harga berat molekul kitosan EDTA 5% (C1), kitosan EDTA 10% (C2), kitosan EDTA 15% (C3) yang diperoleh hampir sama bahkan cenderung meningkat serta dihasilkan derajat deasetilasi (DD) yang relatif hampir sama (lihat Tabel 4). Dari hasil deasetilasi terlihat bahwa depolimerisasi dan putusnya gugus asetil amidaterjadi pada proses deasetilasi pada suhu 120°C. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Kim (2004) dan Methacanon *et al.* (2003) yang menunjukkan bahwa peningkatan temperatur reaksi berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan berat molekul kitosan yang disebabkan oleh peristiwa depolimerisasi dan putusnya gugus asetil amida. Beberapa ion logam kadang berfungsi sebagai katalis oksidasi. Selama proses deasetilasi EDTA yang larut dalam NaOH 60% membentuk kompleks dengan Ca, Fe, Mg, Si dan mineral lainnya secara stabil sehingga dapat memperlambat proses oksidasi yang menjadi penyebab utama pemutusan gugus asetil amida dan depolimerisasi pada proses deasetilasi.

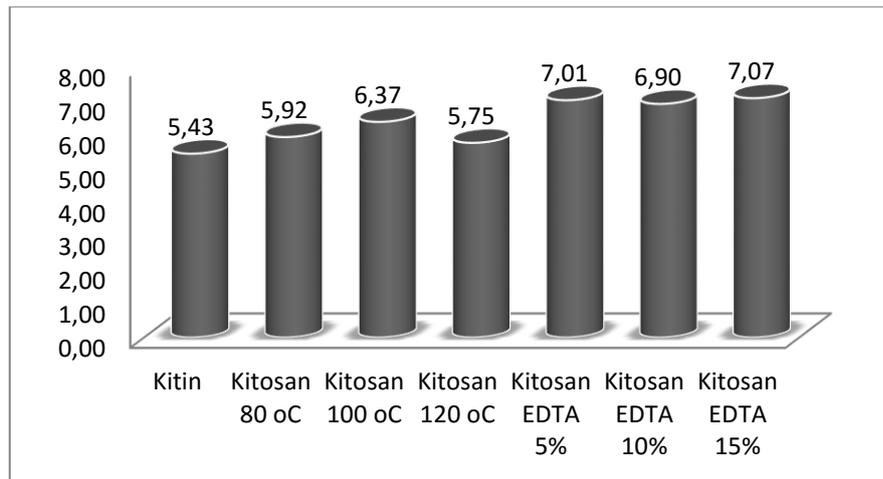
Selain itu dalam pengaplikasian kitosan, berat molekul juga mempengaruhi aktivitas biologi kitosan tersebut. Misalnya, kitosan dengan berat molekul dalam rentang 5-20 kDa, menunjukkan aktivitas biologi lebih besar dari kitosan yang lain (Muzzarelli & Muzzarelli, 2002). Pada kitosan yang mempunyai berat molekul rendah dengan berat 20kDa dapat berfungsi mencegah perkembangan *diabetes mellitus* dan memiliki afinitas yang lebih tinggi untuk lipopolisakarida dibandingkan dengan kitosan yang mempunyai berat molekul 140kDa kitosan (Kondo, Nakatani, Hayashi, & Ito, 2000). Kitosan yang mempunyai berat molekul rendah dengan berat molekul 5-10kDa memiliki potensi untuk digunakan dalam sistem pengiriman DNA (Jeon, Taman, & Kim, 2001). Richardson, Kolbe, dan Duncan (1999) menunjukkan bahwa kitosan dengan berat molekul rendah dapat berperan dalam pencegahan pertumbuhan bakteri patogen (Chien, 2006). Sedangkan untuk kitosan yang mempunyai berat molekul tinggi dapat digunakan pada bidang farmasi yaitu sebagai *slow rilis* obat, serta dapat diaplikasikan pada bidang kesehatan karena dapat menurunkan kadar Pb dalam darah (Purwoningsih, 2008). Hal ini didasari karena kitosan mempunyai kandungan yang tinggi pada gugus -OH, hal inilah yang menyebabkan kitosan sebagai polimer yang bersifat hidrofilik dan memberikan efek khelasi. Selain itu adanya kandungan amina

primer yang aktif sehingga dapat mengikat ion logam melalui sepasang elektronnya. Kitosan juga bersifat polikationik sehingga dapat berikatan dengan sel darah merah sehingga dapat mengikat Pb dalam darah.

Keberadaan nitrogen di dalam rantai kitosan merupakan parameter penting dalam menentukan mutu kitosan. Banyaknya kandungan N-total yang terdapat dalam kitin dapat dilihat dari persen nitrogen. Metode yang umum digunakan untuk penentuan kadar nitrogen adalah metode Kjeldahl. Metode ini dilakukan melalui 3 tahap yaitu destruksi, distilasi dan titrasi.

Penentuan kadar nitrogen kitin dan kitosan ditentukan berdasarkan metode Kjeldahl yaitu dengan proses destruksi, distilasi dan titrasi. Destruksi berfungsi dalam pemecahan senyawa nitrogen dalam kitin dan kitosan, kitin dan kitosan dicernakan dengan asam sulfat pekat dimana nitrogen akan terkonversi menjadi ammonium sulfat. Dalam reaksi kitin dan kitosan dengan alkali yaitu NaOH 60%, amoniak dibebaskan melalui proses distilasi uap. Sedangkan fungsi dari proses distilasi adalah untuk mengetahui berapa kandungan nitrogen yang terlepas dari hasil destruksi, kemudian kelebihan nitrogen tadi dititrasi dengan asam klorida 0,01 N.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, didapat hasil pengukuran dan penghitungan kadar nitrogen yang bervariasi.



Gambar 2. Kadar N total kitin dan kitosan

Berdasarkan Gambar 2 yang menunjukkan data kadar nitrogen total kitin dan kitosan hasil perhitungan dengan metode Kjeldhal. Kadar nitrogen hasil perhitungan menunjukkan kadar nitrogen total bertambah dengan bertambahnya suhu deasetilasi kadar nitrogen total kitin < kitosan A < kitosan B, akan tetapi kadar N total kitosan C yaitu pada suhu 120°C mengalami penurunan, hal ini mengindikasikan terjadinya pemutusan asetil amida dan depolimerisasi rantai kitosan pada saat proses deasetilasi dengan NaOH 60%. Putusnya rantai kitosan baik dalam bentuk monomernya (depolimerisasi), serta putusnya gugus asetil amida menyebabkan berkurangnya gugus nitrogen yang terikat serta, hal ini sangat berpengaruh terhadap sifat dan kemampuan kitosanyang dihasilkan terutama daya adsorbsinya menjadi berkurang karena seperti kita ketahui bahwa gugus aktif pada kitosan terdapat pada gugus aminanya (-NH₂). Sedangkan data hasil perhitungan kadar nitrogen total pada proses deasetilasi kitin menjadi kitosan dengan

penambahan EDTA menunjukkan kenaikan kadar nitrogen total yang cukup baik. Kitosan C1, kitosan C2, maupun kitosan C3 mempunyai kadar nitrogen total yang relatif sama dan jauh lebih meningkat dibandingkan dengan proses deasetilasi tanpa penambahan EDTA. Selain itu, keberadaan EDTA juga menyebabkan bertambahnya berat molekul kitosan dan menjadi kan kitosan murni menjadi derivatnya yaitu kitosan-EDTA. Kitosan-EDTA sudah banyak dikembangkan dan dipelajari karena kelebihanannya dari pengkhelet lain.

Kadar air adalah salah satu parameter kualitas penting dari kitin, karena akan mempengaruhi daya simpannya. Abu pada kitosan adalah sisa yang tertinggal setelah kitosan dibakar sampai bebas karbon, sisa yang tertinggal ini adalah unsur-unsur mineral yang terdapat dalam suatu bahan. Pada proses pengabuan unsur-unsur itu membentuk oksidanya. Sedangkan bahan-bahan organik lainnya akan terbakar. Proses yang berperan penting dalam penentuan

kadar abu adalah proses demineralisasi dan netralisasinya. Kadar abu pada kitin terutama disebabkan oleh garam-garam anorganik $\text{Ca}(\text{PO}_4)_2$ dan CaCO_3 . Kadar abu ini juga dapat menentukan efektif atau tidaknya proses demineralisasi yang telah dilakukan. Kandungan mineral di dalam kitin dan kitosan

seperti Ca, Fe, Mg, Si dan mineral lainnya merupakan spesies-spesies yang sebenarnya bukan merupakan atom pembentuk kitin. Oleh karena itu, keberadaan air dan mineral bersifat sebagai pengotor dalam sampel kitin dan kitosan.

Tabel 6. Kadar air dan mineral kitin dan kitosan

No	Sampel	Kandungan (% (b/b))	
		Air	Mineral
1	Kitosan 80°C (A)	16,02	0,25
2	Kitosan 100°C (B)	16,72	0,20
3	Kitosan 120°C (C)	16,40	0,18
4	Kitosan EDTA 5% (C1)	15,26	0,17
5	Kitosan EDTA 10% (C2)	14,14	0,16
6	Kitosan EDTA 15% (C3)	12,06	0,14

Sumber: Data primer yang diperoleh

Kadar abu sering disebut juga kadar mineral yang berupa Ca, Fe, Mg, Si. Penambahan EDTA pada proses deasetilasi dapat menurunkan kadar mineral kitosan karena mineral yang berupa Ca, Fe, Mg, dan Si tersebut terkomplekskan oleh EDTA dan pada proses penyaringan dan pencucian dengan akuades, mineral tersebut ikut larut di dalam akuades tersebut. Keberadaan air dan mineral bukan merupakan spesies-spesies pembentuk kitin tetapi bersifat pengotor dalam sampel kitin dan kitosan. Oleh karena itu, untuk mengurangi keberadaan pengotor tersebut sangat baik digunakan EDTA. Selain kita bisa mendapatkan seri kitosan dengan derajat deasetilasi yang bervariasi tetapi berat molekulnya relatif sama, kita juga bisa mendapatkan kitosan yang minim pengotor dan tidak mustahil kita bisa mendapatkan kitosan dalam keadaan murni tanpa pengotor.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Peningkatan temperatur deasetilasi yaitu 80°C dan 100°C menyebabkan peningkatan terhadap berat molekul dan derajat deasetilasi kitosan, akan tetapi pada temperatur 120°C mengalami penurunan berat molekul dan derajat deasetilasi yang mengindikasikan terjadinya proses depolimerisasi dan putusya gugus asetil amida pada kitosan.
2. Penambahan EDTA pada proses deasetilasi mampu menghambat oksidasi yang merupakan penyebab utama terjadinya depolimerisasi dan penurunan berat molekul pada kitosan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bert, E.N., V.Y. Novikov., & I.N. Konovalova. 1998. Depolymerisation of chitin and chitosan in the course of base deacetylation., *Russ. J. appl. Chem.*, 79(7):809-812
- Champagne L.M. 2008. The Synthesis of Water Soluble N-Acyl Chitosan Derivatives for Characterization as Antibacterial Agents. *Disertasi*. Departement of Chemistry, Louisiana State University.
- Chein, R. H & H.D. Hwa. 2006. Effect of molecular weight of chitosan with the same degree of deacetylation on the thermal, mechanical, and permeability properties of the prepared membrane. *Carbohydr Polym.* 29, 353-358.
- Duncan, R. I., S.C. Richardson & H.V. Kolbe. 1999. *J. Pharm*, 178, 231-43.
- Fouda, M. M. G. 2005. Use of Natural Polysaccharides in Medical Textile Applications. *Disertasi*. Fachbereich Chemie Universitat Duisburg-Essen, Germany.
- Junaidi, A. B. 2008. Komposit Kitosan-Silika dan Kitosan-Glutaraldehyd Sebagai Agen Antibakteri pada Kain Katun. *Tesis*. Program Studi Ilmu Kimia Jurusan Ilmu-Ilmu Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Gadjah Mada.
- Kaban, J. 2009. *Modifikasi Kimia dari Kitosan dan Aplikasi Produk yang Dihasilkan*. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Tetap dalam Bidang Kimia Organik Sintesis. Universitas Negeri Medan, Medan.
- Kim S. F. 2004. Physicochemical and Functional Properties of Crawfish Chitosan as Affected by Different Processing Protocols. *Tesis*. Departement of Food Science Louisiana State University.
- Lim, S. 2002. Synthesis of a Fiber-reactive Chitosan Derivative and Its Application to Cotton Fabric as an Antimicrobial Finish and Dyeing Improving Agent. *Tesis*. Department of Fiber and Polymer Science, North Caroline State University.
- Liu, N.X., C.H. Guang., P.C. Jin., L.C. Guang., L.X. Sheng., Hong & L. Jun. 2006. *Carbohydr. Polym*, 64, 60-65.
- Mirzadeh, H., H. Yaghobi., S. Amanpour., H. Ahmadi., A. Mohagheghi & F. Hormozi. 2002. Preparation of Chitosan Derivated from Shrimp's Shell of Persian Gulf as a Blood Hemostatis Agent. *Iran. Polym.* 11(1):63-68.
- Rahmadani, A. 2010. *Pengaruh Regenerasi Larutan NaOH terhadap Derajat Deasetilasi dan Berat Molekul Kitosan pada Proses Deasetilasi Kitin Secara Bertahap*, Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru. (tidak dipublikasikan).
- Ramadhan, Loan. C.L., D. Radiman., V. Wahyuningrum., L.O. Suendo., Ahmad & S. Valiyaveetiil. 2010. Deasetilasi Kitin secara Bertahap dan Pengaruhnya terhadap Derajat Deasetilasi serta Massa Molekul Kitosan. *Jurnal Kimia Indonesia*. 5(1):17-21.
- Rochima. E. 2005. *Karakterisasi Kitin dan Kitosan Asal Limbah Rajungan Cirebon Jawa Barat*. ITB, Bandung.
- . 2005. *Pemurnian dan Karakterisasi Kitin Deasetilase Termotabil dari bacillus papandayan Asal Kawah Kamojang Jawa Barat*. ITB, Bandung.