

EFEK REGENERASI LARUTAN NaOH PADA DEASETILASI KITIN TERHADAP DERAJAT DEASETILASI KITOSAN

Ahmad Budi Junaidi* dan Arini Rahmadani

Program Studi Kimia Universitas Lambung Mangkurat

E-mail : a_budi_j@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penelitian ini tentang pengaruh regenerasi larutan NaOH pada deasetilasi kitin secara bertahap terhadap derajat deasetilasi kitosan yang dihasilkan. Proses deasetilasi kitin dilakukan dengan merefluks kitin pada temperatur 110^oC selama 1x3 jam (I), 2x1,5 jam (II) dan 3x1 (III). Derajat deasetilasi ditentukan berdasarkan pendekatan spektra FTIR. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa regenerasi larutan NaOH menyebabkan peningkatan derajat deasetilasi kitosan, dengan derajat deasetilasi kitosan (I) sebesar 68,05%, kitosan (II) 84,23% dan kitosan (III) 90,32%. Selain itu regenerasi larutan NaOH.

Kata kunci: kitin, kitosan, regenerasi larutan NaOH, deasetilasi bertahap, derajat deasetilasi.

ABSTRACT

The effect of regenerating NaOH solution in multistage deacetylation of chitin has been done. The process of deacetylation was carried out in multistages process, one of the chitin was on in 110 °C for 1x3 hours (chitosan I), 2x1.5 hours (chitosan II) and 3x1 hours (chitosan III). The deacetylation degree of chitosan was determined by FTIR method, The results showed that chitosan prepared by regeration of NaOH solution causes an increase deacetylation degree of chitosan, deacetylation degree of chitosan I, II and III are 68.05%, 84.23% and 90.32% respectively.

Keywords: chitin, chitosan, regeration of NaOH solution, multistage deacetylation, deacetylation degree.

PENDAHULUAN

Kitosan merupakan hasil deasetilasi Kitin yang merupakan polimer polisakarida terbesar kedua di bumi setelah selulosa. Berbagai metode isolasi dan aplikasi kitosan telah banyak dikaji dan dikembangkan, beberapa Negara

telah memproduksi secara komersial dalam jumlah relatif besar.. Kitosan memiliki potensi aplikasi yang lebih luas dibandingkan kitin karena kitosan memiliki tingkat kelarutan yang lebih tinggi dari pada kitin. Sumber utama kitin dan kitosan yang banyak dimanfaatkan orang adalah

cangkang/kulit kelompok krustasea, seperti kulit udang dan cangkang kepiting/rajungan (Kim, 2004 ; Fouda, 2005). Kulit udang dan cangkang kepiting terdiri dari kitin (25-60%), protein 25-40% dan kalsium 20-40% (Widodo, *et al.*, 2003). Komposisi penyusun kulit udang sangat bervariasi tergantung pada spesies, umur dan lingkungan. Dengan demikian metode preparasi kitin dan kitosan juga sangat bervariasi.

Salah satu Karakteristik utama kitosan yang sering digunakan sebagai parameter kualitas kitosan adalah derajat deasetilasi. Hasil penelitian Lim, 2002 menunjukkan bahwa peningkatan harga derajat deasetilasi merupakan fungsi peningkatan dari konsentrasi NaOH, temperatur reaksi dan waktu reaksi. Hasil penelitian Yaghobi dan Mirzadeh, (2003) menyatakan bahwa regenerasi NaOH pada proses deasetilasi signifikan meningkatkan derajat deasetilasi.

Walaupun teknik/metode preparasi kitosan telah banyak disampaikan, namun kadang perlu teknik yang khusus untuk kepentingan penelitian tertentu, seperti untuk kajian efek derajat deasetilasi membutuhkan seri kitosan dengan derajat deasetilasi yang bervariasi namun berat molekulnya relative sama. Begitu juga sebaliknya untuk kajian efek berat molekul dibutuhkan seri kitosan dengan berat

molekul bervariasi namun derajat deasetilasi relatif sama. Set kitosan seri seri kitosan derajat deasetilasi dapat dilakukan deasetilasi menggunakan konsentrasi NaOH, rasio, waktu dan suhu bervariasi. Penyeragaman berat molekul dapat dilakukan dengan meminimalisasi degradasi rantai polimer pada saat *N*-deasetilasi melalui perlakuan gas nitrogen pada lingkungan reaktor (Mirzadeh *et al.*, 2002) atau penambahan reduktor seperti NaBH_4 (Lim, 2002 ; Gyliene *et al.*, 2003).

Penelitian yang dilakukan ini berdasarkan pada hasil penelitian Yaghobi & Mirzadeh, 2003 yang berhasil memperoleh kitosan dengan derajat deasetilasi relatif tinggi dengan meregenerasi NaOH (secara bertahap) dibandingkan derajat deasetilasi kitosan yang diperoleh jika deasetilasi dilakukan secara kontinyu). Derajat deasetilasi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri FTIR dengan pendekatan Baxter, *et al.*, 1992 (baseline b) dan Domszy & Robert, 1985 (baseline a) (Khan, *et al.*, 2002). Trend nilai derajat deasetilasi yang diperoleh dari kedua pendekatan tersebut akan dikonfrontasi dengan trend kadar nitrogen masing-masing kitosan. Berdasarkan hal tersebut di atas, penelitian ini mengkaji teknik efektivitas regenerasi NaOH pada

deasetilasi kitin untuk menghasilkan seri kitosan dengan derajat deasetilasi.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan Penelitian

Kulit udang pink (*Penaeus duorarum*) dari Banjarmasin NaOH pellet (Merck), HCl 37% (Merck), NaHOCl 12% (Brataco lab.), akuades, CH₃COOH 99% (Merck), aseton teknis (Asia lab.).H₂SO₄ (Merck), asam borat, selenium.

Peralatan Penelitian

Serangkaian alat refluks, spektrofotometer inframerah (Shimadzu FTIR-8201 PC), *stop watch*, serangkaian alat destilasi Kjedahl,

Prosedur Penelitian

Isolasi kitin dari serbuk kulit udang

Kulit udang yang diperoleh dari perusahaan pengalengan udang di daerah Basirih, Banjarmasin dikeringkan kemudian dihaluskan dengan blender. Serbuk kulit udang disaring dengan ayakan 60 mesh dan dikeringkan dalam oven pada temperature 60 °C. Serbuk kulit udang dideproteinasi dengan direfluks menggunakan NaOH 4% dengan rasio 1 : 10 (berat : volume) pada temperatur 80 °C selama 1 jam, serbuk sampel disaring dan dicuci dengan akuades hingga netral. Serbuk udang hasil deproteinasi didemineralisasi menggunakan HCl 1 M dengan perbandingan 1 : 15 (berat :

volume) pada temperatur kamar selama 3 jam, serbuk disaring dan dicuci dengan akuades hingga netral. Serbuk udang hasil deproteinasi dan demineralisasi didepigmentasi menggunakan NaHOCl 4% dengan perbandingan 1 : 10 (berat : volume) pada temperatur kamar selama 1 jam, serbuk hasil depigmentasi di saring dan dicuci dengan akuades hingga netral. kitin yang diperoleh dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C.

Deasetilasi kitin

Kitin hasil isolasi dari kulit udang dideasetilasi secara bertahap dengan direfluks menggunakan NaOH 60% dimana NaOH diregenerasi untuk setiap tahap dengan perbandingan 1 : 15 (b/v) pada temperatur 110 °C selama 1 x 3 jam (deasetilasi satu tahap), 2 x 1,5 jam (deasetilasi dua tahap) dan 3 x 1 jam (deasetilasi tiga tahap).

Analisis gugus fungsional dan penentuan derajat deasetilasi kitin dan kitosan

Gugus fungsional dan derajat deasetilasi kitin dan kitosan ditentukan dengan metode spektrofotometri infra merah. Serbuk kitin dan kitosan dianalisis dalam bentuk pelet dengan mencampurkan 25 mg sampel dan 250 mg KBr (1 : 100 berat/berat). Pelet dianalisis serapan gugus-gugus fungsinya pada rentang bilangan gelombang 4000-400 cm⁻¹.

Derajat deasetilasi kitin dan kitosan ditentukan berdasarkan persamaan yang diusulkan oleh Domszy dan Robert (1985):

$$DD = 100 - \left[\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times \frac{100}{1,33} \right] \dots \dots \text{baseline}(a)$$

dan persamaan yang diusulkan oleh Baxter, *et al.*, 1992 :

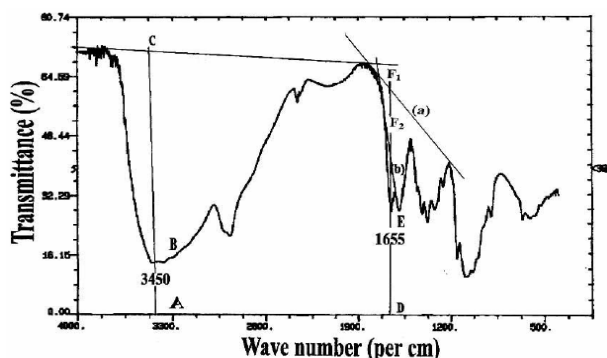
$$DD = 100 - \left[\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times 115 \right] \dots \dots \text{baseline}(b)$$

Absorbansi pada λ_{\max} gugus amida dan gugus hidroksil yang digunakan sebagai dasar perhitungan derajat deasetilasi direpresentasikan dengan persamaan matematika yang diusulkan oleh Sabnis dan Block, 1997 sebagai berikut :

$$\log_{10} (DF_1/DE) = (A_{1655})_{\text{amida}} \text{ atau}$$

$$\log_{10} (DF_2/DE) = (A_{1655})_{\text{amida}}$$

$$\text{dan } \log_{10} (AC/AB) = (A_{3450})_{\text{hidroksil}}$$



Gambar 1. Spektra FTIR kitosan : *baseline* (a) dan (b) (Khan, *et al.*, 2002)

Penentuan kadar nitrogen Kitin/kitosan

Kadar nitrogen kitin dan kitosan ditentukan berdasarkan metode Kjeldahl. Sampel kitin dan kitosan didestruksi

menggunakan asam sulfat dan selenium dengan pemanasan hingga larutan jernih. Larutan kitosan hasil destruksi selanjutnya didestilasi dengan NaOH 60%. Distilat ditangkap menggunakan asam borat dan dititrasi dengan HCl yang telah distandarisasi. Kadar nitrogen (%) dihitung berdasarkan persamaan :

$$= \frac{\text{Volume HCl}}{\text{massa sampel}} \times 14 \text{ gr/mol} \times [\text{HCl}]$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Kitosan

Tabel 1. Rendemen tahapan isolasi kitin

Tahapan	rendemen (%)
deproteinasi	58,03
demineralisasi	51,85
depigmentasi	77,27
kitin dari kulit udang	23,25

Isolasi kitin dari serbuk kulit udang pink dilakukan dengan 3 tahap, yaitu : deproteinasi dan demineralisasi serta proses tambahan depigmentasi.

Berdasarkan data Tabel 1. proses isolasi kitin menunjukkan rendemen yang relative rendah. Hal ini mengindikasikan sampel kulit udang yang digunakan kandungan kitinnya relative rendah. Kulit udang sampel didominasi kandungan protein dan mineral.

Tabel 2. Rendemen deasetilasi kitin

Proses deasetilasi	rendemen (%)
1 x 3 jam	76,20
2 x 1,5 jam	73,80
3 x 1 jam	70,20

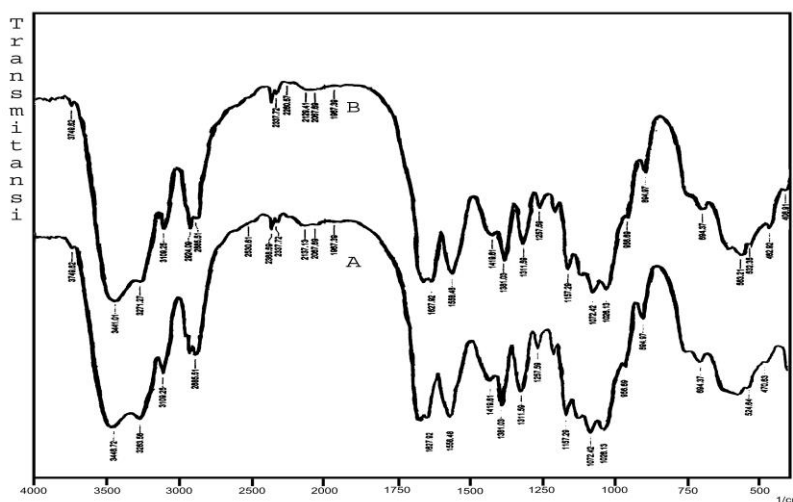
Preparasi kitosan dilakukan dengan regenerasi NaOH yang bervariasi. Regenerasi NaOH bertujuan untuk mengembalikan efektivitas NaOH dalam proses penghilangan asetil pada kitin..

Berdasarkan Tabel 2, rendemen kitosan yang dihasilkan melalui deasetilasi bertahap semakin berkurang dengan semakin banyaknya regenerasi NaOH. Hal

ini mengindikasikan semakin banyaknya bagian kitin yang hilang, kemungkinan besar adalah gugus asetil. Semakin banyak gugus asetil yang hilang, maka semakin tinggi derajat deasetilasi kitosan yang diperoleh.

Gugus Fungsional Kitin dan Kitosan

Spektra FTIR kitin (Gambar 2) menunjukkan serapan agak lebar pada daerah $3441,0 \text{ cm}^{-1}$ yang berasal dari vibrasi ulur gugus hidroksil. Pita serapan pada daerah $2924,1 \text{ cm}^{-1}$ dan $2885,5 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi ulur gugus karbonil karena adanya gugus asetil (Gyliene *et al.*, 2003 ; Cardenas & Miranda, 2004).



Gambar 2. Spektra infra merah kitin (A) depigmentasi, (B) tanpa depigmentasi

Serapan tajam pada daerah $1651,1 \text{ cm}^{-1}$ akibat vibrasi ulur -C=O , serapan pada $1157,3 \text{ cm}^{-1}$ berasal dari vibrasi ulur -C-O dan diperkuat serapan pada daerah $3271,3$ dan $3109,2 \text{ cm}^{-1}$ serta $1627,9 \text{ cm}^{-1}$ yang berasal dari vibrasi tekuk N-H mengindikasikan adanya gugus *N*-asetil yang

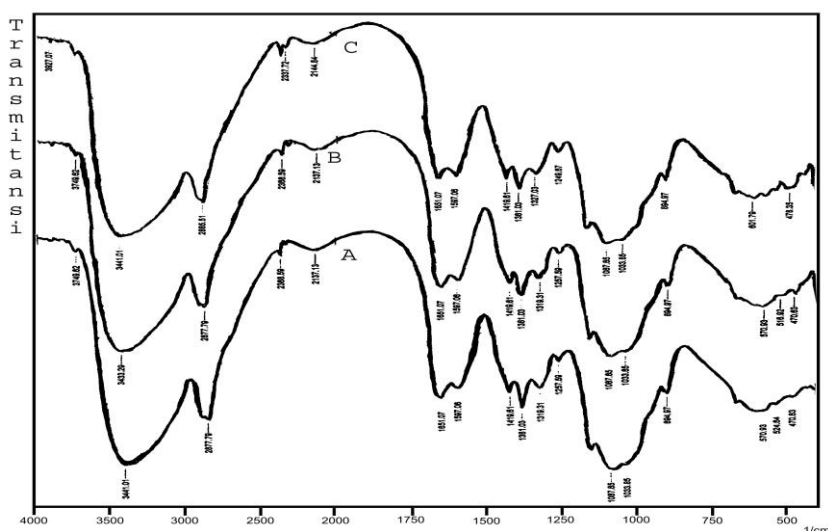
terkonjugasi (Velde, *et al.*, 2004 ; Jumadi, 2006).

Pita serapan tajam pada $1558,5 \text{ cm}^{-1}$ dan $1311,6 \text{ cm}^{-1}$ akibat vibrasi ulur -NH dan vibrasi tekuk -CN dari gugus *N*-asetil (-NHCOCH_3). Pita serapan pada $1028,1 \text{ cm}^{-1}$ akibat vibrasi ulur C-O-C dan

1072,4 cm^{-1} akibat vibrasi ulur asimetris dari cincin glukosamin (Gyliene *et al.*, 2003).

Penurunan secara signifikan pita serapan pada 2924,1 cm^{-1} yang mengindikasikan hilangnya sebagian besar senyawa pengotor yang mengandung gugus metilen akibat perlakuan depigmentasi. Senyawa yang lepas tersebut kemungkinan merupakan senyawa karotenoid yang memberikan warna seperti *asthaxanthin*.

Spektra FTIR tiga jenis kitosan yang dihasilkan melalui proses deasetilasi kitosan secara bertahap (Gambar 3) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan pita serapan yang signifikan antar ketiga jenis kitosan ; kitosan I (satu tahap), kitosan II (dua tahap) dan kitosan III (tiga tahap). Hal ini menunjukkan bahwa banyaknya regenerasi larutan NaOH yang dilakukan pada proses deasetilasi kitin tidak mempengaruhi jumlah gugus fungsional kitosan yang dihasilkan.



Gambar 3. Spektra FTIR : (A) kitosan I, (B) kitosan II dan (C) kitosan III

Spektra FTIR kitosan (gambar 3) jika dibandingkan dengan spektra IR dari kitin depigmentasi (gambar 2) teramati adanya beberapa perbedaan yaitu : Hilangnya serapan pada 3271 cm^{-1} , 3109 cm^{-1} , 1558 cm^{-1} dan 1635 cm^{-1} menggambarkan hilangnya gugus asetil dari kitin. Munculnya puncak serapan pada 1597,1 cm^{-1} yang menggambarkan adanya

vibrasi tekuk N-H dari R-NH_2 yang mengindikasikan terjadinya deasetilasi.

Derajat Deasetilasi dan Kadar Nitrogen Kitin dan Kitosan

Tabel 3. Derajat deasetilasi (DD) dan berat molekul (MW) kitin dan kitosan

Sampel	DD (%)		Kadar N (%)
	Baseline a	Baseline b	
Kitin	34,20	38,83	6,01
Kitosan (I)	64,81	68,05	7,06
Kitosan (II)	80,09	84,23	7,49
Kitosan (III)	80,86	90,32	7,58

Deasetilasi kitin atau kitosan menyebabkan berkurangnya rerata berat molekul kitosan, sehingga akan meningkatkan kadar nitrogen kitosan tersebut (Tan, et al., 1998 ;Zhang, et al., 2005). Dengan demikian peningkatan nilai derajat deasetilasi akan berbanding lurus dengan kadar nitrogen kitosan. Data kadar nitrogen dalam penelitian ini digunakan untuk memverifikasi nilai derajat deasetilasi yang dihitung berdasarkan baseline a (persamaan Domszy & Robert) dan baseline b (persamaan Baxter, et al.) (Khan, et al., 2002).

Tabel 3 menunjukkan bahwa data derajat deasetilasi kitin kitosan yang ditentukan berdasarkan baseline b memiliki kecenderungan peningkatan yang lebih mirip dengan kadar nitrogen kitosan dibandingkan derajat deasetilasi kitosan yang ditentukan berdasarkan baseline a.. Semakin banyak proses regenerasi NaOH menyebabkan derajat deasetilasi dan kadar nitrogen kitosan. semakin meningkat. Hal ini menunjukkan regenerasi NaOH mampu meningkatkan secara efektivitas proses deasetilasi.

KESIMPULAN

Regenerasi NaOH pada proses deasetilasi kitin mampu meningkatkan derajat deasetilasi kitosan yang dihasilkan. Derajat deasetilasi kitosan yang diperoleh

dari hasil deasetilasi kitin secara bertahap berturut-turut adalah kitosan I (deasetilasi 1x3 jam) sebesar 68,05 %, kitosan II (deasetilasi 2x1,5 jam) sebesar 84,23 % dan kitosan III (deasetilasi 3x1 jam).

DAFTAR PUSTAKA

- Cardenas, G. & Miranda S.P., (2003), FTIR and TGA Studies of Chitosan Composite Film, *J. Chil. Chem. Soc.*, **49**(4), 291-295.
- Ehrlich, H., Maldonado, M., Spindler, K., Eckert, C., Hanke, T., Born R., Goebel C., Simon, P., Heinemann, S. and Worch, H., (2007), First Evidence of Chitin as a Component of The Skeletal Fibers of Marine Sponges (part I), *J. Exp. Zool.*, **308B**, 347-356
- Gyliene, O., Inga R., Rima, T. and Ona, N., (2003), Chemical Composition and Sorption Properties of Chitosan Produced from Fly Larva Shells, *Chemija (Vilnius)*, **14**(3), 121-127.
- Jumadi, (2006), *Karakteristik Adsorpsi dengan Adsorben Kitin dan Humat Kitin dalam Sistem "Fluidized bed"*, (tesis) Program Studi Ilmu Kimia Jurusan Ilmu-Ilmu Matematika dan Pengetahuan Alam Sekolah Pascasarjana Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta
- Khan, A.T., Khiang, P. K. and Seng, C. H., (2002), Reporting Degree of Deacetylation Values of Chitosan : The Influence of Analytical Methods, *J. Pharm Pharmaceut Sci.*, **5** (3), 205-212.
- Kim S. F., (2004), *Physicochemical and Functional Properties of Crawfish Chitosan as Affected by Different Processing Protocols*, (tesis) Department of Food Science Louisiana State University.

- Laka, M. and Svetlana, C., (2006), Preparation of Chitosan Powder and Investigation of Its *Properties*, *Proc. Estonian Acad. Sci. Chem.*, **55**(2), 78-84
- Mirzadeh, H., Yaghobi N., Amanpour, S., Ahmadi, H., Mohagheghi, A. and Hormozi, F., (2002), Preparation of Chitosan Derived from Shrimp's Shell of Persian Gulf as a Blood Hemostatis Agent, *Iran. Polym J.*, **11**(1), 63-68
- Rege, P. R. and Block L. H., (1999), Chitosan Processing : Influence of Process Parameters during Acidic and Alkaline Hydrolysis and Effect of The Processing Sequence on The Resultant Chitosan's Properties, *Carbohydr. Res.*, **321**, 235-245
- Tan C. S., Eugene K. Teck K. T. & Sek M. W (1998) The Degree of Deacetylation of Chitosan : Advocating The First Derivative UV-Vis Spectrophotometry Method of Determination, *Talanta* **45**, 713-719
- Tretenichenko, E. M., Datsun, V. M., Ignatyuk, L. N. and Nud'ga, L. A., (2006), Preparation and Properties of Chitin and Chitosan from a Hydroid Polyp, *Russ. J. of Appl. Chem.*, **79**(8), 1341-1346.
- Velde, K.V & Kiekens (2004), Structure analysis and Degree of substitution Chitin, Chitosan and Dibutylchitin by FTIR Spectroscopy and Solid State ¹³C NMR, *Carbohydr Polym*, **58**, 409-416
- Widodo, A.Mardiah & Andy P., (2005), *Potensi Kitosandari Sisa Udang Sebagai Koagulan Logam berat Limbah Cair Industri Tekstil.*
- Yaghobi, N., and Mirzadeh, H., (2003), Enhancement of Chitin's Degree of Deacetylation by Multistage Alkali Treatments, *Iran. Polym. J.*, **13**(2), 131-136.
- Zhang Y, Xue, C., Xue Y., Gao R. & Zhang X., (2005), Determination of The Degree of Deacetylation of Chitin and Chitosan by X-ray Powder Diffraction, *Carbohydr. Res*, **340**, 1914-1917.