



KINETIKA REAKSI DEPOLIMERISASI KARAGINAN PADA SUHU DAN pH OPTIMUM DENGAN KATALISATOR ASAM SULFAT

Inggrid K. Wardhani, Samir Badres, Aji Prasetyaningrum^{*)}

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro
Jln. Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang, 50239, Telp/Fax: (024)7460058

Abstrak

Karaginan merupakan polisakarida alami yang dihasilkan dari proses ekstraksi alga merah kelas Rhodophyceae dan merupakan polimer dari unit α -L- dan/atau α -D- atau β -D-galaktopyranosil. Karaginan sangat bermanfaat dalam bidang biomedis karena memiliki sifat elektronegatif yang kuat. Kerapatan muatan antara estersulfat yang ada memungkinkan terjadinya interaksi elektrostatik dengan protein secara spesifik, sehingga menyebabkan munculnya fungsi aktivitas biologi senyawa tersebut. Penggunaan karaginan dalam aplikasi biomedis sering dibatasi oleh ukuran berat molekul dan viskositasnya yang tinggi. Dengan merubah menjadi (Low Molecular Weight Fractions (LMWFs)), karaginan memiliki rantai yang lebih pendek sehingga dapat masuk ke dalam sel lebih efisien dan efektif dibandingkan karaginan berat molekul tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kinetika reaksi pembentukan karaginan BM rendah (LMWFs) melalui proses depolimerisasi kimia (hidrolisa pada kondisi asam/ H_2SO_4) pada kondisi operasi (pH dan suhu) optimum. Proses hidrolisa dilakukan selama 2 jam kemudian sampel diambil per 15 menit untuk dianalisis berat molekulnya. Pada penelitian ini menggunakan perbandingan karaginan dan air (0,6 g : 1000 mL), dengan variasi pH dan variasi suhu. Pada pH 2 dan suhu operasi $70^\circ C$ diperoleh kondisi optimal dengan nilai konstanta kecepatan reaksi depolimerisasi $k = 9,72 \times 10^{-12}$ /detik.

Kata kunci: karaginan; depolimerisasi; kinetika;

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara penghasil rumput laut terbesar di dunia setelah Philipina (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2009). Rumput laut merupakan salah satu komoditi yang memiliki nilai ekonomis tinggi karena pemanfaatannya yang demikian luas sehingga memiliki peluang pasar di dalam negeri maupun luar negeri. Jenis rumput laut yang paling banyak dihasilkan di Indonesia adalah alga merah jenis *Eucheuma cottonii* (menguasai 80% produksi rumput laut Indonesia). Selama ini pengolahan *Eucheuma cottonii* masih terbatas dan sebagian besar dijual dalam bentuk *Eucheuma cottonii* kering atau diolah menjadi Alkali Treated Seaweed (ATS) dan Semi Refined Carrageenan (SRC).

Karaginan disebut sebagai polisakarida Sulfated Galactans (SGs). Secara umum karaginan (SGs) merupakan polimer dari unit α -L- dan/atau α -D- atau β -D-galaktopyranosil. Alasan utama penggunaan SGs yang bersumber dari rumput laut dalam bidang biomedis adalah senyawa tersebut memiliki sifat elektronegatif yang kuat dan kerapatan muatan antara ester sulfat yang memungkinkan terjadinya interaksi elektrostatik dengan protein secara spesifik yang menyebabkan munculnya fungsi aktivitas biologi senyawa tersebut. (Pomin V.H., 2009).

Pada proses isolasi karaginan, biasanya diperoleh ukuran BM yang tinggi > 100 kDa. Suatu terobosan yang sangat berharga dalam bidang biomedis adalah dengan membuat karaginan berat molekul rendah atau biasa disebut Low Molecular Weight Fractions (LMWFs) of carrageenan. Untuk mendapatkan LMWFs karaginan yang bermanfaat pada aplikasi biomedis diperlukan berat molekul rendah < 20 kDa (Bartolomeu et al., 2011). Dengan BM rendah, LMWFs karaginan dapat masuk ke dalam sel lebih efisien dan efektif dibandingkan karaginan berat molekul tinggi (Wijesekara et al., 2011). Muatan negatif dari LMWFs karaginan memberikan efek inhibitor dengan berinteraksi dengan muatan positif dari virus atau permukaan sel dan selanjutnya mencegah penetrasi virus ke dalam sel (Stephanie et al., 2010). Pembuatan LMWFs karaginan akan meningkatkan bioavailabilitas dan memperluas potensial aplikasi karaginan.

^{*)}Penulis Penanggung Jawab (ajiprasetyaningrum@yahoo.com)

Selama proses pemanasan, hidrolisa, dan proses oksidasi, polisakarida mengalami depolimerisasi menjadi berat molekul rendah yang tergantung pada variabel proses dan jenis polisakarida. (Bradley & Mitchell, 1988; Capron, Yvon & Muller, 1996; Hjerde, Kristiansen, Stokke, Smidsrød & Christensen, 1994; Karlsson & Singh, 1999; Masson, 1954). Terdapat beberapa metode untuk hidrolisa karaginan yaitu melalui proses hidrolisa secara kimiawi dengan *mild-acid hydrolysis* (Yuan & Song, 2005) dan hidrolisa secara enzimatik dengan enzim *carragenase* (Haijin et al., 2003). Hidrolisa secara kimiawi mempunyai keuntungan waktu reaksi lebih cepat dan pengaturan kondisi operasi mudah, tetapi kelemahannya yield produk rendah, Sedangkan hidrolisa secara enzimatik mempunyai keuntungan yield lebih tinggi dan hasilnya memiliki sifat biologis yang asli, tetapi kelemahannya memerlukan biaya cukup tinggi dan pengoperasiannya lebih rumit. (Knutsen et al., 2001). Teknik depolimerisasi karaginan yang lain adalah dengan kombinasi reaksi hidrolisa dan reduksi (Stevenson & Furneaux, 1991), depolimerisasi secara fisik dengan teknik microwave (Zhou et al., 2004), ultrasonic (Yamada, Ogamo, Saito, Uchiyama, & Nakagawa, 2000) dan depolimerisasi dengan radikal bebas H_2O_2 (Zuniga, Matsuhiro, & Mejias, 2006).

Pada penelitian ini akan meninjau pengaruh pH dan suhu terhadap kecepatan depolimerisasi karaginan melalui reaksi hidrolisa pada kondisi asam. Data-data ini selanjutnya akan digunakan untuk menentukan konstanta kecepatan reaksi depolimerisasi dengan model dinamika menggunakan regresi. Data-data tersebut berguna untuk merancang reaktor yang dapat digunakan untuk hidrolisis karaginan, baik ukuran/dimensi serta kondisi operasinya.

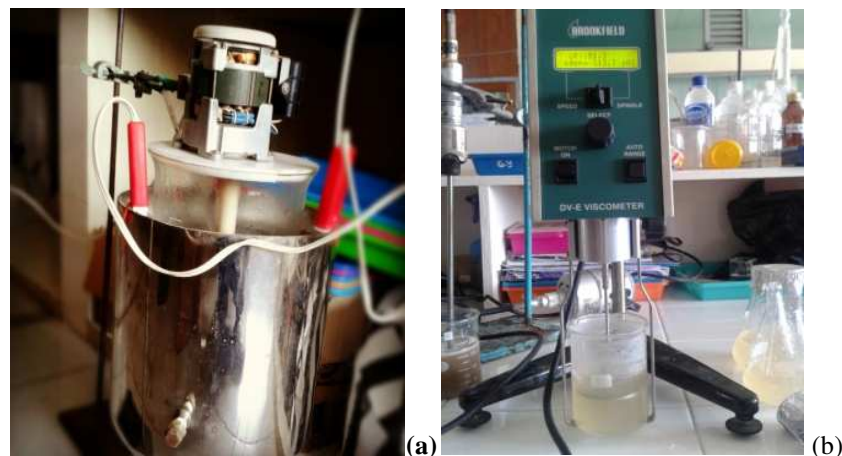
2. Bahan dan Metode Penelitian

Bahan:

Euchemia cottonii kering diperoleh dari Jepara, Jawa Tengah. Bahan kimia yang digunakan antara lain HCl untuk mencuci *Euchemia cottonii*, KOH untuk mendapatkan ATC (*Alkali Treated Cottonii*) dan untuk ekstraksi ATC menjadi *Semi Refined Carrageenan*, serta KCl untuk mengendapkan filtrat hasil ekstraksi. Proses depolimerisasi karaginan menggunakan H_2SO_4 sebagai katalisator.

Metode Penelitian

Rumput laut *Euchemia cottonii* yang telah dicuci bersih kemudian direndam dalam larutan HCl pH 5-6 selama 15 menit pada suhu kamar setelah itu direndam dalam larutan KOH pH 9-10 selama 18 jam. Hasil rendaman kemudian dipotong-potong dan dijemur hingga kering di bawah sinar matahari menjadi *Alkali Treatment Cottonii* (ATC). ATC tersebut kemudian diekstraksi dengan KOH pada pH 8-9 selama 3 jam pada suhu $75-85^\circ C$ dengan perbandingan ATC : air = 1 : 60. Hasil ekstraksi disaring kemudian dijedalkan menggunakan larutan KCl 2,5% dengan perbandingan 1 : 2. Gel karaginan hasil penjedalan kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari, setelah kering gel dihaluskan hingga diperoleh tepung *Semi Refined Carrageenan* (SRC). Tepung SRC sebanyak 2,4 gram dilarutkan dalam *distilled water* sebanyak 4L. Sejumlah katalisator asam sulfat ditambahkan ke dalam reaktor berisi suspensi karaginan dan pH diatur sesuai variabel (2; 3; 4; 5; dan 6) kemudian dipanaskan hingga mencapai suhu variabel (30; 40; 50; 60; dan $70^\circ C$) selama 2 jam. Setelah temperatur yang diinginkan tercapai, larutan diambil sebanyak 150 ml setiap selang waktu 15 menit, kemudian dilakukan analisa viskositas yang untuk selanjutnya dikonversi ke ukuran berat molekul.



Gambar 1. Rangkaian Alat (a) Hidrolisa Asam; (b) Viskometer *Brookfield*

Analisa Berat Molekul

Sebanyak 150 ml larutan hasil hidrolisa yang diambil per 15 menit dimasukkan ke dalam beaker glass 250 ml untuk diuji viskositasnya dengan Viskometer *Brookfield*. Sebelum digunakan, Viskometer *Brookfield* dikalibrasi terlebih dahulu dengan mengukur viskositas aquades dan atur kecepatan putaran spindel serta nomor spindel yang digunakan. Hasil pengukuran Viskositas *Brookfield* disebut viskositas spesifik. Berat molekul karaginan diukur berdasarkan viskositas instrinsik. Viskositas intrinsik didapat dari viskositas spesifik dengan menggunakan Persamaan Huggins(Rohmadi, et al 2011):

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = [\eta] + kH[\eta]^2 C$$

Keterangan:

- η_{sp} = viskositas spesifik, cp
- C = konsentrasi larutan, g/L
- KH = konstanta Huggins (0,3)
- $[\eta]$ = viskositas intrinsik, dL/g

Hubungan antara berat molekul dengan viskositas untuk karaginan mengikuti persamaan Mark Houwink untuk kappa karaginan terlarut dalam air suhu 25°C (Vivian et al, 1999) sebagai berikut:

$$[\eta] = k_{MH} \cdot M^a$$

$$M = ([\eta] / k_{MH})^{1/a}$$

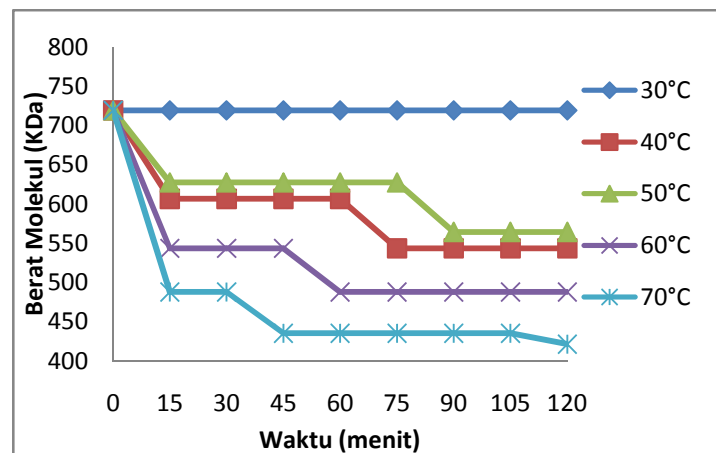
Keterangan:

- $[\eta]$ = viskositas intrinsik (dL/g)
- $k_{MH} = 3,1 \times 10^{-3}$
- a = 0,95
- M = berat molekul (kDa)

3. Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi operasi optimum depolimerisasi karaginandengan metode hidrolisa asam. Katalisator yang digunakan adalah H₂SO₄ karena dari hasil penelitian pendahuluan menunjukkan penurunan viskositasnya lebih cepat dibandingkan dengan menggunakan HCl. Untuk mendapatkan kondisi operasi yang optimum maka pada penelitian ini digunakan duatahapan proses. Tahapan pertama adalah untuk mengetahui pengaruh suhu pada proses hidrolisa karaginan, tahapan selanjutnya adalah untuk mengetahui pengaruh pH pada proses hidrolisa karaginan. Selanjutnya menghitung nilai konstanta kecepatan reaksi dari kondisi optimum hidrolisa asam karaginan.

3.1. Penentuan Suhu Optimum Hidrolisa Asam Karaginan



Gambar 2 Berat Molekul Karaginan Pada Berbagai Suhu

Dari gambar 2 terlihat bahwa hidrolisa karaginan dengan suhu 70°C menghasilkan harga berat molekul (BM) yang paling rendah daripada suhu 30°C, 40°C, 50°C dan 60°C, yaitu 435,35 kDa. Pada reaksi hidrolisa semakin tinggi suhu reaksi maka semakin laju reaksi hidrolisa semakin besar. Hal ini sesuai dengan persamaan Arrhenius sebagai berikut:

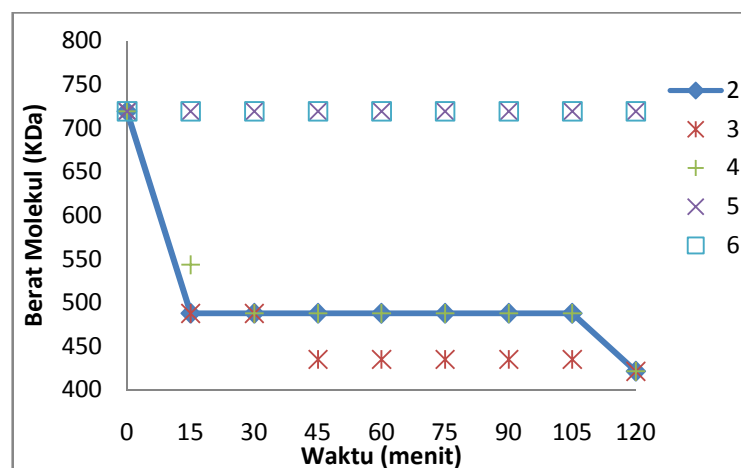
$$k = Ae^{-Ea/RT}$$

dimana:

- k = konstanta kecepatan reaksi (s⁻¹)
- A = frekuensi tumbukan
- T = suhu reaksi (K)
- Ea = energy aktivasi (kJ/mol)
- R = tetapan gas (0,008314 kJ.K⁻¹.mol⁻¹)

Persaman tersebut menunjukkan bahwa konstanta kecepatan reaksi akan semakin besar dengan semakin berkurangnya energi aktivasi dan semakin tingginya suhu. Reaksi yang dilakukan pada suhu tinggi dapat menaikkan laju reaksi dimana tumbukan antar molekul lebih banyak dan mengakibatnya viskositas menurun. Viskositas sangat bergantung pada berat molekul, bentuk, dan ukuran molekul. (Fatima et al., 2007). Selain itu, reaksi hidrolisa merupakan reaksi endotermis sehingga membutuhkan panas untuk dapat bereaksi. Semakin tinggi suhu maka energi yang dihasilkan semakin besar dan reaksi berjalan semakin cepat (Kusumawardani, 2011). Oleh karena itu, untuk proses hidrolisa karaginan dipilih suhu 70°C sebagai suhu optimum.

3.2. Penentuan pH Optimum Hidrolisa Karaginan



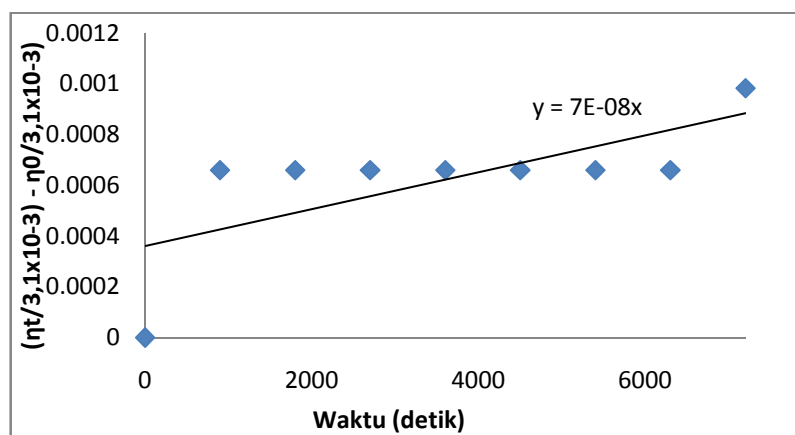
Gambar 3 Berat Molekul Pada Berbagai pH

Dari gambar3 terlihat bahwa hidrolisa karaginan pada pH 2 menghasilkan penurunan berat molekul (BM) yang paling signifikan dalam waktu 15 menit, yaitu mencapai 487,96 kDa.

Pada penelitian terdahulu hidrolisa karaginan pada pH 2 menghasilkan produk yang berupa galaktosa dengan jumlah lebih banyak daripada hidrolisa karaginan pada suhu 3, 4, 5 dan 6 (Meinita et al., 2012). Semakin rendah pH maka viskositasnya juga akan menurun, hal ini dikarenakan ion H^+ membantu proses hidrolisa ikatan glikosidik pada molekul karaginan (Montero et al., 2002). Jika pH semakin rendah, konsentrasi asam pada larutan karaginan semakin besar sehingga laju reaksi hidrolisa asam akan semakin besar. Hal ini dikarenakan energi yang dibutuhkan untuk reaksi degradasi karaginan didapatkan dari katalis asam, sehingga dengan meningkatnya konsentrasi asam maka energi yang dihasilkan juga besar. Laju reaksi yang besar mengakibatkan tumbukan antar molekul yang terjadi semakin banyak sehingga produk yang dihasilkan lebih banyak dan penurunan viskositasnya lebih besar (Dian P.P. & Shinta P.A., 2009). Oleh karena itu, untuk proses hidrolisa karaginan dipilih pH 2 sebagai pH optimum.

3.3. Kinetika Reaksi Pada Kondisi Optimum Hidrolisa Karaginan

Pada penelitian ini diperoleh kondisi operasi optimum untuk hidrolisa karaginan dengan menggunakan katalisator H_2SO_4 pada suhu $70^\circ C$ dan pH 2 selama 2 jam.



Gambar 4 Kinetika Reaksi Depolimerisasi Pada Kondisi Optimum

Nilai konstanta kecepatan reaksi depolimerisasi merupakan gradien dari garis tersebut yang dapat dihitung menggunakan *least square* persamaan berikut:

$$\left(\frac{\eta_t}{K_{MH}}\right)^{-1/a} - \left(\frac{\eta_{t0}}{K_{MH}}\right)^{-1/a} = \frac{k}{0,392} \cdot t$$

Nilai konstanta kecepatan reaksi depolimerisasi pada kondisi optimum adalah sebesar $9,72 \times 10^{-12}$ /detik.

4. Kesimpulan

Jenis katalisator yang paing efektif adalah H_2SO_4 . Kondisi operasi optimum hidrolisa karaginan adalah pada suhu $70^\circ C$ dan pH 2. Nilai konstanta kecepatan reaksi depolimerisasi pada kondisi optimum adalah sebesar $9,72 \times 10^{-12}$ /detik.

Daftar Pustaka

- Bartolomeu W.S., Souza, Miguel A. Cerqueira, Ana I. Bourbon, Ana C. Pinheiro, Joana T.M., Jose A.T., Manuel A.C., Antonio A.V. 2011. *Chemical characterization and antioxidant activity of sulfated polysaccharide from the red seaweed Gracilaria birdie*, Food Hydrokoloid 27 , 287-292
- Caceres, P.J., Carlucci, M.J., Darmonte, E.B., Matsuhira, B., Zuniga, E.A. 2000. *Carrageenans froms chilean samples of Stenogramme interrupta (Phyllophoraceae): structural analysis and biological activity*. Phytochemistry 53 pg 81-86.



- Campo, V.L., Kawano, D.F. da Silva Jr., D.B. dan Carvalho, I. 2009. *Carrageenans: Biological Properties, chemical modifications and structural analysis-A review*. Carbohydrat Polymers 77 p. 167-180.
- Dewi, Dian P dan Shinta P. A. 2009. *Studi Hidrolisa Pemurnian Karaginan dengan Katalis Asam Sulfat*. Malang: Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
- Doty MS. 1985. *Euclidean alvarezii* sp.nov (Gigartinales, Rhodophyta) from Malaysia. Di dalam: Abbot IA, Norris JN (editors). *Taxonomy of Economic Seaweeds*. California Sea Grant College Program. p 37 – 45.
- . 1986. *Biotechnological and Economic Approaches to Industrial Development Based on Marine Algae in Indonesia*. Workshop on MarineAlgae Biotechnology. Summary Report. Washington DC: NationalAcademic Press. p 31-34.
- Doyle, J.P., Giannouli, P., Rudolph, B., dan Morris, E.R. 2010. *Preparation, authentication, rheology and conformation of theta carrageenan*. Carbohydrat Polymers 80 p. 648-654.
- Fatima, Bi., Mahmodul-ul-Hasan, Mohammad Arman, Seema Iqbal dan S. Junaid Mahmood. 2007. *Chemical and Thermodynamic Studies of K-carrageenan Isolated from Hypnea Musciformis (red Algae) of karachi coast*. ISSN: 1579-4377, EJEAFChe, 6 (9), 2007.[2385-2396]
- FAO. 2003. *Production and utilization of products from commercial seaweeds: Chapter 3*.
- FMC Corp. 1977. *Carrageenan*. Marine Colloid Monograph Number One. Marine Colloids Division FMC Corporation. Springfield, New Jersey. USA. p 23-29.
- GENU[®], Carrageenan Book. 2001. CP Kelco U.S., Inc.
- Gonzales, M.E., Alarcon, B., & Carraso , L., 1987. *Polysaccharides as antiviral agents: antiviral activity of carrageenan. Antimicrobial agent and chemotherapy*, 31, 1388-1393
- Haijin, M, Xiaolu., & Huashi, G, A. 2003. *Kappa carrageenan derived oligosaccharide prepared by enzymatic degradation containing antitumor activity*, Journal of applied Phycology, 15, 297-303
- Imeson A. 2000. *Carrageenan*. Di dalam: Phililps GO, Williams PA (editors). *Handbook of Hydrocolloids*. Wood Head Publishing. England. p 87 – 102.
- Knutsen, S.H., Shetmoen, M, Kristensen, T, Barbeyron, T, Kloareg.B., & Potin., P. 2001. *A rapid method for the separation and analysis of carrageenan oligosaccharides released by iota-and kappa-carrageenan* . Carbohydrate Researh, 331, 101-106
- Lai, Vivian M.-F., Cheng-yi Lii, Wei-Ling Hung, & Ting-Jang Lu. 1999. *Kinetic compensation effect in depolymerisation of food polysaccharides*. Food Chemistry, 68 (2000), 319-325
- Mac Artain, P., Jaacquier, J.C. dan Dawson, K.A. 2003. *Physical characteristics of calciuminduced κ-carrageenan networks*. Carbohydrate Polymers, Vol. 53, No. 4, (March2003), pp. 395-400, ISSN 0144-8617.
- Mangione, M.R., Giacomazza, D., Bulone, D., Martorana, V., Cavallaro, G. dan San Biagio, P.L. 2005. *K⁺ and Na⁺ effects on the gelation properties of k-Carrageenan*. Biophysical Chemistry 113 p. 129– 135
- Mangione, M.R., Giacomazza, D., Bulone, D., Martorana, V., Cavallaro, G. dan San Biagio, P.L. 2007. *Relation between structural and release properties in a polysaccharide gel system*. Biophysical Chemistry 129,p 18
- Meinita, Maria D.N., Yong Ki Hong, dan Gwi-Taek Jong. 2011. *Comparison of sulfuric and hydrochloric acids as catalysts in hydrolysis of Kappaphycus alvarezii (cottonii)*. Bioprocess Biosyst Eng (2012) 35:123-128
- Montero, P. dan Mateos, M. P. 2002. *Effects of Na⁺, K⁺ and Ca²⁺ on gels formed from fish mince containing a carrageenan or alginate*. Food Hydrocolloid 16 p375-385.
- Pomin, V.H. 2010. *Structural and functional insights into sulfated galactans: a systematic review*. Glycoconj J 27 p. 1-12.
- Rochmadi, Wiratni, Moh. Fahrurrozi, Distantina Sperisa. 2011. *Carrageenan Properties Extracted from Euchema cottonii, Indonesia*.
- Stephanie, B., Eric,D., Sophie, F.M., Christian, B., Yu, G., 2010. Carrageenan from Soleera cordalis (Gigartinales) : *Structural analysis and immunological activities of the low molecular weight fractions*. Carbohydrate Polymers 81, 448-460
- Stevenson, T.T., and Furneaux, R.H..1991. *Chemical methods for the analysis of sulfacted galactans from red algae*. Carbohydrate Research 210 pg 277-298.
- Tecante , A. dan Santiago, M. 2010. *Solution Properties of k-Carrageenanand Its Interaction with Other Polysaccharides in Aqueous Media*. In Tech Corp.
- Van de Velde, F. dan De Rooter, Gerhard A. 2005. *Polysaccharides and polyamides in the food industry: Properties, production and Patents*. Ed A. Steinbuchel dan S.K. Rhee. Wagenigen: Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA Weinheim p 87.
- Verbeken, D. (2006). *Functionality of κ-carrageenan in complex food gels*. PhD dissertation. Ghent University, Gent, 179 p.



- Wijesekara, I., Pangestuti, R., dan Kim, S.K. 2011. *Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae*. Carbohydrat Polymers 84 p 14-21.
- Yamada,T., Ogamo, A., Saito T., Watanabe, J., Uchiyama, H., & Nakagowa Y., 1997. *Preparation and anti HIV activity of low-molecular weight carrageenan and their sulfated derivatives*. Carbohydrate Polymers, 32, 51-55
- Yamada,T., Ogamo, A., Saito T., Watanabe, J., Uchiyama, H., & Nakagowa Y.,2000. *Preparation of O-acetylated low molecular-weight carrageenas with potential anti HIV & low anticoagulant affect*. Carbohydrate Research, 41, 155-120
- Yang, C., Chung D., Shin, I.S., Lee, H.Y., Kim, J.C., Lee, Y. J., et al. 2008 *Effect of Molecular Weight and Hydrolysis Conditions an anticancer activity of fucoidans from sporophyll of Undaria Pinnatifida*, International Journal of Biological Macromolecules, 43, 433-437
- Yuan H., & Song, J.2005 *Preparation, Structural Characterization and in vitro anti tumor activity of kappa carrageenan oligosaccharide fraction from kappaphycus sriantum*, Journal of Applied Phycology. 17, 7-13
- Zhou,G., Sun, Y., Xin, H., Zhang, Y., Li, Z., Xu, Z.. 2004. *In vivo antitumor and immunomodulation activities of different molecular weight lambda carrageenans from Chondrus ocellatus*. Pharmacol. Res. 50 pg 47-53
- Zuniga, E.A., Matsuhira, B.,and Mejias, E..2006.*preparation ofa low-molecular weight fraction by radical depolymerization of the sulfated galactan from Schizymenia binderi (Gigartinales Rhodophyta) and its anticoagulant activity*. Carbohydrate Polymers 66 pg 208-215.
- www.zhenpai.com. Shishi Xieli Ocean Biochemistry Co. 2012. China