



## HIDROLISIS KITOSAN MENGGUNAKAN KATALIS ASAM KLORIDA (HCl)

Irsan Adhiatama, Muhamad Zainudin, Nur Rokhati <sup>\*)</sup>

Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik UNDIP Semarang  
Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang 50239, Telp/Fax. (024)7460058

### Abstrak

Berat molekul merupakan faktor yang penting dalam aplikasi kitosan. Berat molekul yang tinggi akan membatasi penggunaan kitosan. Penelitian ini menggunakan proses kimiawi dengan hidrolisa asam. Hidrolisis merupakan de-polimerisasi untuk menurunkan berat molekul yang terjadi karena adanya pemutusan ikatan glikosida melalui reaksi menggunakan air ( $H_2O$ ). De-polimerisasi kitosan berbeda dengan senyawa polisakarida yang lain, karena mempunyai ikatan  $\beta$  yang sulit terdekomposisi dan gugus amin yang bersifat kationik. Oleh karena itu diperlukan kondisi operasi dan jenis katalis yang sesuai sehingga dihasilkan kitosan dengan spesifikasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh kondisi optimum proses hidrolisa kitosan dan menentukan jenis katalis asam yang paling baik untuk menghasilkan kitosan dengan berat molekul rendah

Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu, konsentrasi katalis, dan jenis katalis sangat berpengaruh terhadap reaksi hidrolisa kitosan. Efek depolimerisasi meningkat seiring meningkatnya suhu dan konsentrasi katalis, ditandai dengan penurunan viskositas dan berat molekul. Untuk menghasilkan kitosan dengan berat molekul antara 50-100 kDa, kondisi optimum yaitu suhu operasi  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ , waktu hidrolisa 120 menit, dan konsentrasi katalis HCl 0,6-0,8 N.

**Kata kunci :** depolimerisasi, kitosan, berat molekul

### Abstract

The molecular weight is an important factor in the application of chitosan. High molecular weight will restrict the use of chitosan. This research uses a chemical process with acid hydrolysis. Hydrolysis is de-polymerization to lower molecular weight that occur because of the termination of glycoside bond by reaction with water ( $H_2O$ ). De-polymerization of chitosan is different from other polysaccharide compounds, because its have a difficult decomposed  $\beta$ -bond and a cationic amine groups. Therefore, it required operating conditions and type of catalyst to produce chitosan in accordance with specifications. The purpose of this research is to obtain optimum conditions of chitosan hydrolysis process and determine the type of acid catalyst is best to produce chitosan with low molecular weight (LMWCs).

Results showed that temperature, catalyst concentration, and type of catalyst greatly affect on the depolymerization of chitosan. Depolymerization effect increases with increasing temperature and catalyst concentration, characterized by reduced viscosity and molecular weight of chitosan. To produce chitosan with a molecular weight between 50-100 kDa, optimum conditions : temperature of  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ , hydrolysis time 120 minutes, and the concentration of Hydrochloric Acid (HCl) was 0.6 to 0.8 N.

**Key word :** depolymerization; chitosan; molecular weight



## 1. Pendahuluan

Kitosan merupakan polisakarida alami yang *nontoxic*, *biodegradable*, dan *biocompatible* yang dihasilkan dari proses deasetilasi kitin yang terkandung di dalam cangkang binatang invertebrata terutama *crustacean*, seperti udang, kepiting, dan rajungan. Kitosan dapat dimanfaatkan secara luas diberbagai bidang industri seperti dalam bidang pangan (*nutraceutical*, *flavor*, pembentuk tekstur, *emulsifier*, penjernihan minuman dan antimikroba), farmasi (antitumor, penurunan kolestrol dan mencegah diabetes militus), kosmetik dan lain – lain (Kumar, 2000, Shahidi, *et al.*, 2005, Zainol, *et al.*, 2008). Disisi lain kesesuaian kitosan untuk diaplikasikan di berbagai bidang aplikasinya tergantung dari berat molekul dan derajat deasetilasi (Nguyen, *et al.*, 2008).

Akhir-akhir ini penelitian yang fokus untuk mengkonversi kitosan menjadi Low molecular weight chitosan (LMWCs) semakin meningkat (Tsao, *et al.*, 2010) karena LMWCs sangat potensial untuk aplikasi bidang medis dan farmasi, seperti terapi gen, penurunan kolesterol, mencegah diabetes mellitus, sebagai antimikroba (Kittur, *et al.*, 2003), *antitumour activity* (Qin and Du, 2002) dan lebih potensial sebagai *DNA carrier* pada sistem pengantaran DNA. Dalam aplikasinya sebagai bahan pengawet pada makanan, rendahnya BM kitosan lebih berpengaruh terhadap antimicrobial activity dibanding dengan tingginya derajat deasetilasi (Rejane *et al.*, 2009). Di sisi lain, usus makhluk hidup, terutama manusia tidak mempunyai enzim kitonase yang dapat memutuskan ikatan  $\beta$ -glikosida yang terkandung dalam senyawa kitosan (Li *et al.*, 2005).

Untuk itu, diperlukan peningkatan kualitas produk kitosan dan yang terpenting adalah pengurangan BM kitosan sehingga kitosan lebih aplikatif. Salah satu cara pengurangan BM kitosan adalah dengan cara hidrolisa yaitu proses dekomposisi kimia yang terjadi karena adanya pemutusan ikatan glikosida yang menghubungkan antara monomer satu dengan monomer yang lain melalui reaksi menggunakan air ( $H_2O$ ) sehingga membentuk bagian – bagian penyusun yang lebih sederhana dengan berat molekul lebih rendah. Depolimerisasi kitosan agak berbeda dengan senyawa polisakarida yang lain, karena disamping mempunyai ikatan  $\beta$  yang sulit terdekomposisi, kitosan juga mengandung gugus amin yang bersifat kationik. Tujuan dilakukan penelitian adalah untuk mengetahui kondisi operasi (yaitu suhu, waktu dan konsentrasi katalis) optimum untuk menghasilkan kitosan dengan BM sesuai spesifikasi LMWCs.

## 2. Bahan dan Metode

### Persiapan Bahan baku

Bahan baku yang digunakan pembuatan LMWCs adalah kitosan dari Biotech Surendo, Komp. Pelabuhan Perikanan, Jl. Pelabuhan Perikanan No.1 Kejawanen Cirebon.

### Hidrolisa kitosan

Proses hidrolisa kitosan dilakukan dengan cara aquadest dimasukan dalam reaktor yang dilengkapi dengan pengaduk, kemudian dipanaskan hingga mencapai suhu tertentu. Setelah temperatur yang diinginkan tercapai, serbuk kitosan dimasukkan kedalam reaktor dan diikuti oleh pemasukan katalis. Proses hidrolisis dilakukan selama waktu tertentu dengan pengadukan dan temperatur dijaga konstant. Setelah proses hidrolisis berakhir, dilakukan netralisasi dengan menambahkan larutan NaOH. Padatan yang diperoleh kemudian disaring, dicuci dengan aquades dan dikeringkan.



### **Analisa berat molekul**

Berat molekul kitosan diukur berdasarkan viskositas instrinsik. Dalam penentuannya, larutan kitosan perlu didisipkan dengan konsentrasi 0,00;0,02; 0,04;0,06 dan 0,08 % w/v dalam larutan asam asetat 1% 100 ml. Sejumlah larutan tersebut dimasukkan ke dalam viscometer Ostwald dan ditentukan waktu alirnya dengan pengukuran berulang tiga kali. Bobot molekul dapat dihitung dengan menggunakan persamaan Mark Houwink sebagai berikut:

$$\eta_{sp} = \frac{t - t_0}{t_0}$$

Keterangan :

$\eta_{sp}$  = viskositas spesifik (detik)

$t$  = waktu yang diperlukan untuk mengalirnya larutan sampel (detik)

$t_0$  = waktu yang diperlukan untuk mengalirnya larutan solven (detik)

Berat molekul kitin dan kitosan diukur berdasarkan viskositas instrinsik ( $\eta_{sp}$ ). Data yang diperoleh dipetakan pada grafik  $\eta_{sp} / C$  terhadap  $C$ . Viskositas instrinsik adalah titik pada grafik yang menunjukkan nilai  $C=0$ . Berat molekul ditentukan berdasarkan persamaan Mark-Houwink yaitu:

$$[\eta] = kM^\alpha$$

Keterangan:

$[\eta]$  = viskositas intrinsik

$k$  = konstanta pelarut ( $3.5 \times 10^{-4}$ )

$\alpha$  = konstanta (0.76)

$M$  = berat molekul

### **3. Hasil dan Pembahasan**

#### **Penentuan Variabel Berpengaruh**

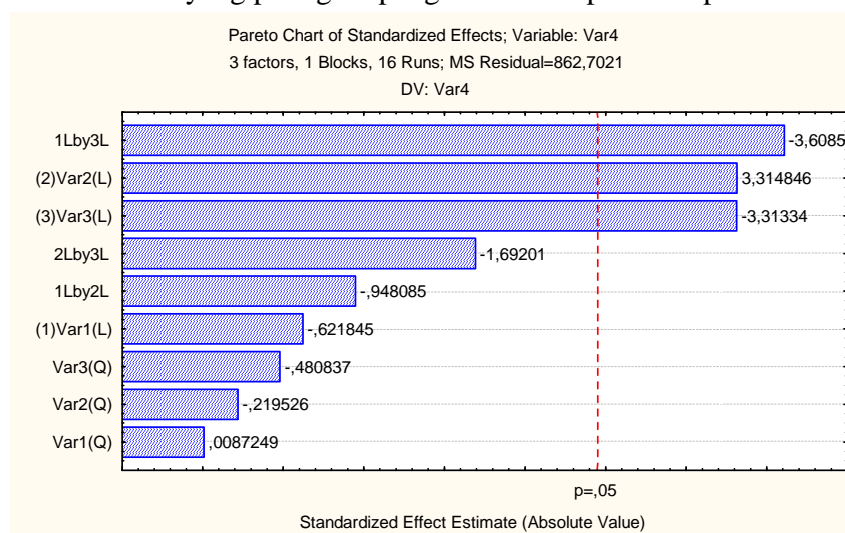
Hasil penelitian pendahuluan untuk menentukan variabel yang paling berpengaruh dilakukan dengan memvariasikan suhu, konsentrasi katalis, dan waktu hidrolisa. Sebagai parameter adalah berat kitosan setelah hidrolisa. Perhitungan berat molekul berdasarkan uji viskositas dan hasilnya dapat dilihat pada tabel 1



Tabel 1 Hasil penelitian pendahuluan pada variasi suhu ( $^{\circ}\text{C}$ ), waktu (menit) dan konsentrasi katalis (N)

Penelitian ke-	Suhu (var 1)	Waktu (var2)	Konsentrasi HCl (var 3)	Viskositas	Berat Molekul
1	70	60	0,25	7,972	138,446
2	70	60	0,8	0,079	0,60772
3	70	200	0,25	9,406	168,1881
4	55	130	0,525	5,632	91,99105
5	70	200	0,8	0,451	4,71803
6	40	200	0,25	8,674	152,8976
7	40	200	0,8	5,771	94,66786
8	55	130	0,987493	3,845	58,71193
9	40	60	0,25	2,723	39,12315
10	55	130	0,062507	5,658	92,49087
11	55	12,2745	0,525	1,494	19,30774
12	55	130	0,525		91,99105
13	40	60	0,8	5,831	95,82685
14	55	247,7255	0,525	8,348	146,1597
15	80,22689	130	0,525	5,521	89,87287
16	29,77311	130	0,525	5,426	88,0545

Berdasarkan data yang diperoleh kemudian diolah menggunakan program statistika 6 untuk mengetahui variabel yang paling berpengaruh dalam proses depolimerisasi kitosan.



Gambar 1 Pengaruh suhu (var 1), waktu (var 2) dan konsentrasi katalis (var 3)

Gambar 1 menunjukkan bahwa variabel 2 yaitu waktu dan variabel 3 yaitu konsentrasi katalis sangat berpengaruh terhadap proses depolimerisasi kitosan. Suhu tidak berpengaruh terhadap proses secara *independent*, namun interaksi dengan variabel konsentrasi katalis akan berpengaruh terhadap proses.

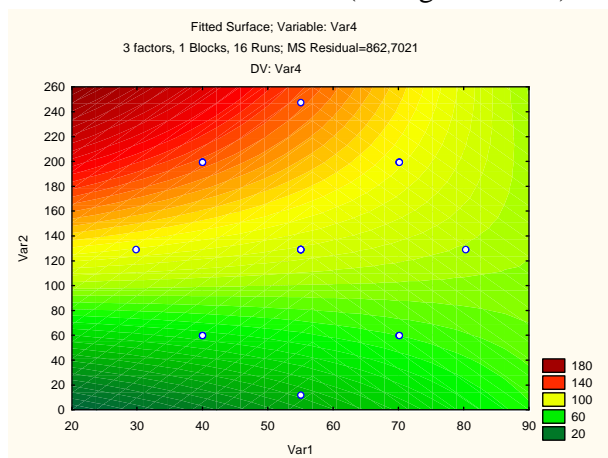
Penambahan katalis asam (konsentrasi solven) akan menyebabkan penurunan pH, depolimerisasi kitosan juga dipengaruhi oleh pH dari katalis. Pada pH dibawah 4, kebanyakan grup amino kitosan terprotonasi dan menyebabkan pembengkakan (sweling) pada ikatan polimer sehingga mengakibatkan putusannya ikatan dalam molekul kitosan (Nystrom et al., 1999). Muzzarelli and Muzzarelli (1998) melalui penelitiannya melaporkan pada pH 5,2 struktur molekul kitosan tidak stabil. Gugus amino bebas membentuk ikatan hidrogen secara intermolekuler yang berikatan dengan oksigen. Sementara pada pH diatas 6,5, ukuran agregat meningkat dan terjadi pemisahan fase. Sehingga polimer dapat mengalami koagulasi dan dapat diambil sebagai padatan amorf. Padatan amorf ini sulit terdegradasi, sehingga perlu penambahan katalis asam untuk memudahkan hidrolisa kitosan. Kondisi asam merupakan kondisi optimal untuk proses hidrolisa kitosan (Muzzarelli and Muzzarelli, 1998; Nystrom et al., 1999).

Sementara itu untuk pengaruh waktu, dalam proses depolimerisasi kitosan tidak semua rantai dapat terdegradasi sempurna, struktur kristal amorf kitosan terkadang tidak ikut terdagradasi. Sehingga waktu hidrolisa akan sangat berpengaruh, waktu yang lama menyebabkan banyak rantai kitosan yang terdegradasi dan menghasilkan kitosan dengan berat molekul yang rendah.

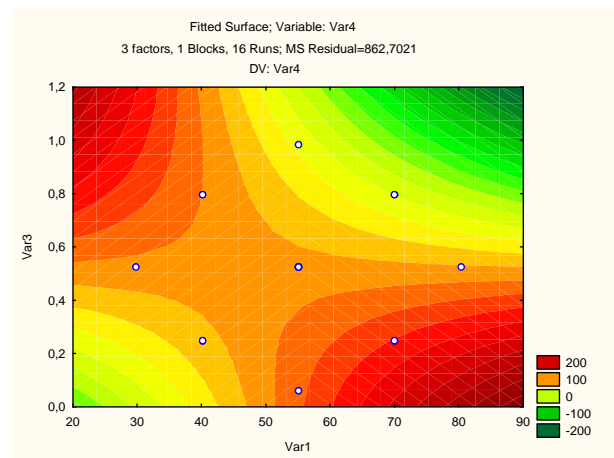
### Optimasi Kondisi Proses

Setelah diketahui variabel yang paling berpengaruh terhadap proses selanjutnya dilakukan analisa kondisi operasi optimum untuk masing-masing variabel. Optimasi dilakukan dengan bantuan program statistika 6. Sesuai dengan tujuan penelitian, yaitu untuk menghasilkan kitosan dengan BM 50-100 kDa maka dialukan optimasi untuk mendapatkan kondisi operasi yang akan menghasilkan kitosan dengan BM 50-100 kDa. Analisa dilakukan dengan bantuan grafik hubungan antar 2 variabel dengan satu variabel dianggap sebagai variabel tetap. Kisaran nilai didapat dengan mengacu arsiran warna pada grafik yang sesuai dengan kisaran warna BM yang diinginkan.

Pada percobaan pertama digunakan variabel konsenrasi katalis HCl 0,525 N sebagai variabel yang ditentukan. Gambar optimasi dengan statistika 6 menunjukkan berat molekul kitosan 50-100 kDa (range warna kuning-hijauan) dicapai pada suhu operasi 70-80 °C dan waktu 120-130 menit. (lihat gambar 2.1).



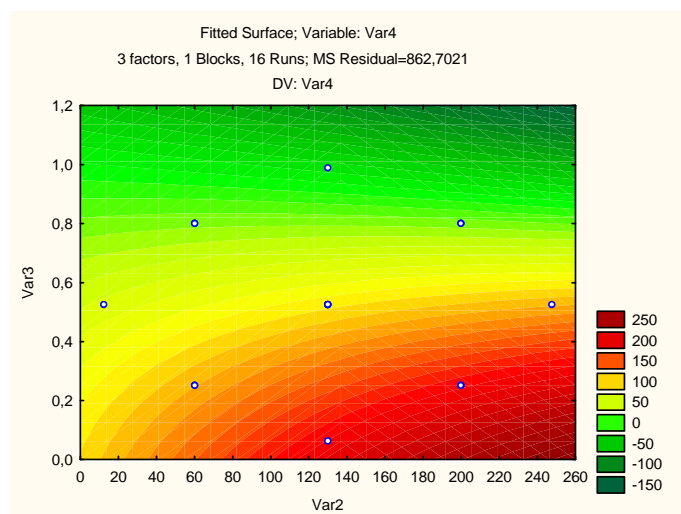
Gambar 2.1 Optimasi suhu (var 1) vs waktu (var 2)



Gambar 2.2 Optimasi suhu (var 1) vs konsentrasi HCl (var 3)

Proses optimasi dilanjutkan dengan melakukan variasi suhu operasi (var 1) dan konsentrasi katalis HCl (var 3) pada waktu percobaan 120 menit.

Hasil optimasi menunjukkan kondisi operasi optimal dengan produk kitosan 50-100 kDa diperoleh pada kisaran suhu operasi (70-80)<sup>0</sup> C dan konsentrasi katalis HCl (0,6-0,8 N). (lihat gambar 2.2). Selanjutnya dilakukan optimasi variabel waktu (var 2) vs konsentrasi HCl (var 3) yang dilakukan untuk suhu 70<sup>0</sup>C.



Gambar 2.3 Diagram optimasi waktu (var 2) vs konsentrasi katalis HCl (var 3)

Untuk optimasi waktu (var 2) vs konsentrasi katalis HCl (var 3) didapat waktu optimum 120 menit karena dalam range 0,6-0,8 N konsentrasi katalis memenuhi untuk berat molekul 50-100 kDa. (lihat gambar 2.3).

Mengacu pada hasil optimasi, produk kitosan dengan kisaran BM 50-100 kDa dapat diperoleh dengan mengatur kondisi operasi pada suhu operasi 70<sup>0</sup>C, waktu operasi 120 menit dan konsentrasi katalis berkisar antara 0,6-0,8 N. Selanjutnya dilakukan uji variabel pengaruh konsentrasi dan jenis katalis dalam range konsentrasi katalis yang memenuhi antara 0,6-0,8 N.

#### 4. Kesimpulan

1. Waktu dan konsentrasi katalis sangat berpengaruh terhadap hidrolisa kitosan. Suhu tidak berpengaruh terhadap proses secara *independent*, namun akan menjadi berpengaruh apabila berinteraksi dengan variabel konsentrasi katalis.
2. Kondisi optimum untuk menghasilkan kitosan dengan BM 50-100 kDa diperoleh pada suhu 70<sup>0</sup>C, waktu 120 menit dan konsentrasi katalis berkisar antara 0,6-0,8 N.

#### Daftar Pustaka

Kittur, F. S., Vishu Kumar, A. B., and Tharanathan, R. N., Low Molecular Weight Chitosans – Preparation by Depolymerization With *Aspergillus Niger* Pectinase, and Characterization, *Carbohydrate Research*, 2003, Volume 338(12), pp. 1283–1290.



Kumar, A. B. V., Gowda, L.R., and Tharanathan, R.N., Non-Specific Depolymerization of Chitosan By Pronase and Characterization of the Resultant Products, *Eur. J. Biochem*, 2004, Volume 271, pp. 713–723.

Li, J., Du, Y., Yang, J., Feng, T., Li, A., and Cheng, P., Preparation and Characterization off Low Molecular weight Kitosan and Chito – oligomers by a Commercial Enzyme. *Polymer Degradation and Stability*, 2005, Volume 87, pp. 441-448.

Muzzarelli, R. A. A., 1998, *Depolymerization of chitins and chitosans with hemicellulase, lysozyme, papain and lipase*, InR. A. A. Muzzarelli, & M. G. Peter (Eds.), Chitin hand book (pp. 153e165), Italy: Atec.

Nguyen, S., Winnik, F.M., and Buschmann, M.D., Improved Reproducibility in the Determination of The Molecular Weight of Chitosan by Analytical Size Exclusion Chromatography. *Carbohydrate Polymers*, 2009, Volume 75, pp. 528–533.

Nystrom, B., Kjoniksen, A.L., Nakken, T., Palmgren, O., and Tande, T., Effect of surfactant concentration, pH, and shear rate on the rheological properties of aqueous systems of a hydrophobically modified chitosan and its unmodified analogue. *Polym Bull*, 1999, Volume 38, pp. 71.

Qin, C.Q., and Du, Y.M., Enzymic Preparation Of Water Soluble Chitosan And Their Antitumor Activity, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2002, Volume 31, pp. 111–117.

Rejane, C.G., Britto, D., Odilio, B.G., and Assis, A Review Of The Antimicrobial Activity Of Kitosan. *Polimeros*, 2009, Volume 19 no.3.

Shahidi, F., and Abuzaytoun, R., Chitin, Chitosan, and Co – Products; Chemistry, Production , Applications, and Health Effects. *Advances In Food And Nutrition Research*, 2005. Vol 49, pp 45-50.

Tsao, C.H., Chang, C.H., Lin, Y.Y., Wu, M.F., Han, J.L., and Hsieh, K.H., Kinetic Study of Acid depolymerization of Chitosan and Effects of Low molecular Weight Chitosan on Erythrocyte Rouleaux Formation. *Carbohydrate Research*, 2011, Volume 346, pp. 94–102.

Zainol, I., Akil, H.M., Mastor, A., Effect of  $\gamma$ -irradiation on the physical and mechanical properties of chitosan powder. *Materials Science and Engineering*, (2009), Vol C 29, pp. 292–29.