



TESIS - TK 092305

# **Pengaruh Sonikasi Bertahap dalam Proses Degradasi Kitosan terhadap Komposisi Dan Properti Produk**

**Nurul Laili Arifin**  
231 2201204

**PEMBIMBING**  
Dr.Ir. Sumarno, M.Eng

**PROGRAM MAGISTER  
BIDANG KEAHLIAN TEKNOLOGI PROSES  
JURUSAN TEKNIK KIMIA  
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2014**



THESIS - RK 2341

**THE EFFECT OF MULTISTAGES SONICATION  
ON COMPOSITION AND PROPERTIES CHANGE  
OF DEGRADED PRODUCT OF CHITOSAN**

Nurul Laili Arifin  
2312 201 204

SUPERVISOR  
Dr.Ir. Sumarno, M.Eng

MASTER PROGRAM  
PROCESS TECHNOLOGY  
CHEMICAL ENGINEERING DEPARTMENT  
FACULTY OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY  
SEPULUH NOPEMBER INSTITUTE OF TECHNOLOGY  
SURABAYA  
2015

**LEMBAR PENGESAHAN TESIS**

Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar  
Magister Teknik (MT)  
di  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

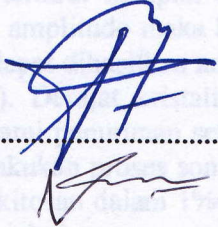

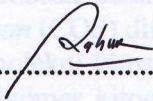
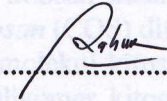
Oleh :

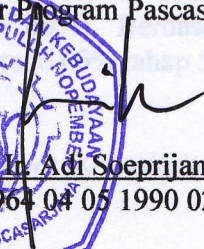
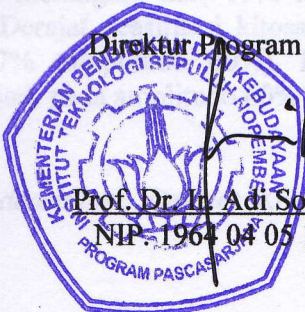
Nurul Laili Arifin  
NRP. 2312201204

Tanggal Ujian : 15 Januari 2015

Periode Wisuda : Maret 2015

Disetujui Oleh :

- |                                       |              |  |
|---------------------------------------|--------------|--|
| 1. Dr. Ir. Sumarno, M.Eng             | (Pembimbing) |   |
| NIP. 1964 06 08 1991 02 1001          |              | .....  |
| 2. Prof. Dr. Ir. Achmad Roesyadi, DEA | (Penguji)    |  |
| NIP. 1950 04 28 1979 03 1002          |              | .....  |
| 3. Dr. Ir. Susianto, DEA              | (Penguji)    |  |
| NIP. 1962 08 20 1989 03 1004          |              | .....  |
| 4. Dr. Yeni Rahmawati, S.T.,M.T.      | (Penguji)    |  |
| NIP. 1976 10 20 2005 01 2001          |              | .....  |

Direktur Program Pascasarjana,  
  
  
Prof. Dr. Ir. Adi Soeprijanto, M.T.  
NIP. 1964 04 05 1990 02 1001

# Pengaruh Sonikasi Bertahap dalam Proses Degradasi Kitosan terhadap Komposisi Dan Properti Produk

Nama : Nurul Laili Arifin  
NRP : 2312 201 204  
Dosen Pembimbing : Dr. Ir. Sumarno, M.Eng

## ABSTRAK

Proses degradasi kitosan dengan berat molekul tinggi melalui sonikasi bertahap telah dilakukan. Tujuan dari proses sonikasi bertahap adalah untuk mempelajari pengaruh jumlah tahapan sonikasi terhadap sifat fisis (derajat kristalinitas) dan sifat kimia (berat molekul dan derajat deasitilasi) terhadap produk degradasi dan memperoleh kondisi proses degradasi sonikasi bertahap sehingga dihasilkan glukosamin dengan persen yield yang tinggi. Sebelum dilakukan proses sonikasi bertahap, pada tahap 1 dilakukan analisa mengenai pengaruh penambahan presentase amplitudo generator sonikasi terhadap sifat fisis (derajat kristalinitas) dan sifat kimia (berat molekul dan derajat deasitilasi) baik produk terlarut maupun tidak terlarut. Berdasarkan hasil variasi amplitudo (50-70%), semakin tinggi amplitudo maka berat molekul kitosan semakin besar, dengan berat molekul terendah yang dapat dihasilkan adalah 248 kDa (amplitudo 50%) dan tertinggi 774 kDa (amplitudo 60%). Derajat kristalinitas kitosan mengalami peningkatan dan derajat deasitilasi kitosan mengalami penurunan setelah dilakukan penambahan amplitudo pada proses sonikasi. Kemudian dilakukan proses sonikasi bertahap pada amplitudo 50% dan 60%. Pada setiap tahapan, 1%(w/v) kitosan dalam 1%(v/v) larutan asam asetat disonikasi selama 120 min pada 60<sup>0</sup>C. Produk dari proses sonikasi dideprotonasi dengan larutan NaOH, di *freeze drying* dan disonikasi kembali sampai diperoleh berat molekul konstan. Struktur kitosan dengan berat molekul rendah dikarakterisasi dengan FTIR dan XRD, untuk mengetahui pengaruh proses sonikasi bertahap terhadap derajat deasitilasi dan derajat kristalinitas. Viskositas berat molekul rata-rata kitosan tidak terlarut diperkirakan dengan metode viskometri sedangkan untuk *oligomer chitosan* (COS) ditentukan dengan *end grup analysis*. Hasil analisa menunjukkan bahwa berat molekul kitosan tidak terlarut menurun dan didapatkan nilai optimum, ( $M_{lim} = 139$  kDa). Oligomer kitosan pada kitosan terlarut memiliki rentang derajat depolimerisasi (DP) 1-3 untuk amplitudo 50% dan 60%. Derajat kristalinitas kitosan tidak terlarut meningkat dari 19% menjadi 30.25% (amplitudo 50%) dan 33.83% (amplitudo 60%). Derajat deasitilasi kitosan turun dari 82% menjadi 75.87 % (amplitudo 50%) dan 66.07% (amplitudo 60%). Berdasarkan hasil persentase yield tertinggi dari hasil eksperimen terjadi pada amplitudo 60% tahap 5.

*Kata kunci : Berat molekul optimum, Derajat deasitilasi, Derajat Kristalinitas, Kitosan, Sonikasi bertahap.*

# The Effect of Multistages Sonication on Composition and Properties Change of Degraded Product of Chitosan

By : Nurul Laili Arifin  
Student Identity Number : 2312 201 204  
Supervisor : Dr. Ir. Sumarno, M.Eng

## ABSTRACT

Degradation of high molecular weight chitosan through multistages sonication has been investigated. A scheme of multistages sonication was proposed to know the effect multistages sonication on the physical properties (degree of crystallinity) and chemical properties (molecular weight and degree of deacetylation) of degraded product. Prior to multistage sonication, on stage 1, the influence of the amplitude of ultrasonic's generator was analyzed to know the effect amplitude on the physical properties (degree of crystallinity) and chemical properties (molecular weight and degree of deacetylation) of degraded product. Based on the variation of the amplitude (50-70%), it was known that the molecular weight increase with increased amplitude, the lower molecular weight occurs at an amplitude of 50% (248 kDa), while the largest in amplitude of 60% (774 kDa). The degree of crystallinity of insoluble chitosan increased and the degree of deacetylation (DD) decreased with increased amplitude. Then, the multistage sonication process was done on the amplitude 50% and 60%. At each level, 1% (w/v) chitosan in 1% (v/v) aqueous acetic acid was sonicated for 120 min at 60°C. The products of sonication treatment were deprotonized by adding alkali solution, freeze dried and re-sonicated until reaching limiting molecular weight. The structures insoluble product were characterized with FT-IR and XRD. The viscosity of average molecular weight of the insoluble chitosan were estimated by a viscometric method while that of oligomers (COS) were determined by end group analysis. The results showed that the molecular weight of insoluble chitosan decreased and reached limiting value, ( $M_{lim} = 139$  kDa). Chitosan oligomers (COS) in soluble chitosan had degree of polymerization (DP) ranging from 1 to 3. The degree of crystallinity of insoluble chitosan increased from 19% to 30.25% (amplitude 50%) and to 33.83% (amplitude 60%) while the degree of deacetylation (DD) decreased from 82% to 75.87% (amplitude 50%) and to 66.07% (amplitude 60%). The results obtained indicated that the highest yield of glucosamine was obtained from the experiment undertaken at amplitude 60% stage 5.

*Key words : Chitosan, Degree of Deacetylation, Degree of Crystallinity, Limiting Molecular Weight, Multistages sonication.*

## **KATA PENGANTAR**

Puji syukur kami ucapkan kepada Allah SWT, karena atas berkat rahmat dan karunia-Nya kami dapat menyelesaikan Laporan Tesis dengan judul :

### **Pengaruh Sonikasi Bertahap dalam Proses Degradasi Kitosan terhadap Komposisi Dan Properti Produk**

Laporan Tesis ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Megister Teknik (MT) di Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS. Pada kesempatan ini, kami mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya atas segala bantuannya dalam penyelesaian Laporan tesis ini kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng selaku Ketua Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS.
2. Bapak Prof.Dr.Ir. Renanto Handogo,MSc.,Ph.D. dan Bapak Prof.Dr.Ir. Gede Wibawa, M.Eng. selaku Kaprodi dan sekprodi Pasca sarjana Teknik Kimia FTI-ITS.
3. Bapak Dr. Ir. Sumarno,M.Eng. selaku Dosen Pembimbing dan juga Kepala Laboratorium Teknologi Material Teknik Kimia yang telah memberikan arahan, bimbingan, masukan, dan dorongan hingga terselesaikannya penelitian ini.
4. Bapak Prof. Dr. Ir. Achmad Roesyadi, DEA., Bapak Dr. Ir. Susianto, DEA., dan Ibu Dr. Yeni Rahmawati, S.T.,M.T. selaku dosen penguji yang telah memberikan arahan dan masukan.
5. Ayahanda tercinta Zainal Arifin dan Ibunda tercinta Sartunut, yang selalu memberikan dukungan, kasih sayang, doa, moril, dan materil. Sehingga, selalu menjadi motivasi bagi penyusun.
6. Saudaraku tersayang Isnaniyanti Fajrin Arifin dan Amirullah Zuhri. Terimakasih sudah memotivasi untuk segera terselesaikannya Tugas Akhir ini.
7. Sahabat-sahabat terbaikku, Flaviana Yohanala Prista. T., Eki Ruskartina, dan Nasjilah Muhayati yang telah menjadi teman berbagi dan pengisi ulang semangat ketika dalam duka maupun senang.

8. Para anggota Laboratorium Teknologi Material (Bu Emma, Mbak Prida, Pak Suud, Fesa, Anjar dan kawan-kawan lainnya yang telah menemani dan membantu selama di laboratorium).
9. Seluruh dosen jurusan Teknik Kimia FTI-ITS, terimakasih untuk semua ilmu yang telah diberikan.
10. Seluruh karyawan jurusan Teknik Kimia FTI-ITS

Kami menyadari bahwa penyusunan Laporan tesis ini masih jauh dari sempurna, karena itu kami mengharapkan segala kritik dan saran yang membangun. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi kita semua, khususnya dibidang Teknik Kimia dan aplikasi dunia Industri Kimia.

Surabaya, Januari 2015

Penyusun

## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN.....	i
LEMBAR PERSETUJUAN.....	iii
ABSTRAK .....	v
ABSTRACT.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR NOTASI.....	xvi
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1. Kitosan.....	5
2.1.1. Properti Kitosan.....	5
2.1.2. Kelarutan Kitosan.....	7
2.1.3. Derajat Deasitilasi.....	8
2.1.4. Derajat Kristalinitas.....	9
2.2. Oligomer Kitosan.....	10
2.3. Sonikasi.....	11
2.3.1. Gelombang Ultrasonik.....	11
2.3.2. Parameter yang Mempengaruhi Kavitasasi.....	14
2.3.3. Ultrasonik dalam Reaksi Kimia.....	16
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b>	
3.1. Bahan Penelitian.....	19
3.2. Peralatan Penelitian.....	20
3.3. Variabel Penelitian.....	21



3.4. Prosedur Penelitian.....	22
3.4.1. Proses Sonikasi.....	22
3.4.2. Energi Kalorimetri.....	24
3.5. Analisa Produk.....	25
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1. Pengaruh Persentase Amplitudo terhadap Sifat Kimia Dan Fisika Kitosan.....	37
4.1.1. Pengaruh Variasi Amplitudo terhadap Perubahan Berat Molekul.....	39
4.1.2. Pengaruh Variasi Amplitudo terhadap Nilai Derajat Kristalinitas.....	41
4.1.3. Pengaruh Variasi Amplitudo terhadap Nilai Derajat Deasitilasi.....	42
4.2. Pengaruh Sonikasi Bertahap terhadap Sifat Kimia Dan Fisika Kitosan.....	44
4.2.1. Pengaruh Sonikasi Bertahap terhadap <i>Unsoluble</i> Produk....	45
4.2.1.1. Pengaruh Sonikasi Bertahap terhadap Perubahan Berat Molekul.....	45
4.2.1.2. Pengaruh Sonikasi Bertahap terhadap Nilai Derajat Kristalinitas.....	49
4.2.1.3. Pengaruh Sonikasi Bertahap terhadap Nilai Derajat Deasitilasi.....	51
4.2.2. Pengaruh Sonikasi Bertahap terhadap <i>Number Avarage         Molecular Weight (Mn) Soluble</i> Produk.....	54
4.2.3. Kondisi Terbaik Proses Degradasi Kombinasi Sonikasi Bertahap.....	57
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1 Kesimpulan.....	61
5.1 Saran.....	62
DAFTAR PUSTAKA.....	63
APENDIK.....	A-1



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Mekanisme deasetilasi kitin menjadi kitosan.....	5
Gambar 2.2	Perubahan struktur rantai pada gugus asetil dari kitin menjadi gugus amina pada kitosan pada proses deasetilasi kitin menjadi kitosan.....	6
Gambar 2.3	Produk degradasi kitosan.....	7
Gambar 2.4	Reaksi depolimerisasi akibat penambahan asam.....	8
Gambar 2.5	Kemungkinan transformasi keadaan solid dari bentuk hidrat menjadi anhidrat tendon kitosan. Warna gelap menunjukkan rantai polimer.....	9
Gambar 2.6	Mekanisme kavitasi akibat gelombang ultrasonik.....	11
Gambar 2.7	Pertumbuhan gelembung ketika proses sonikasi berlangsung	12
Gambar 2.8	Mekanisme <i>coalescence</i> dan <i>rectified diffusion</i> .....	12
Gambar 2.9	Zona reaksi pada proses kavitasi.....	13
Gambar 2.10	Pengaruh amplitudo gelombang bunyi terhadap peluang terjadinya kavitasi.....	15
Gambar 2.11	Jenis <i>bubble collapse</i> ketika mengalami kavitasi <i>asymetric bubble</i> (ketika fase heterogen) dan <i>symetric bubble</i> ketika fase homogen.....	15
Gambar 3.1	Peralatan pada proses sonikasi.....	20
Gambar 3.2	Bagan tahapan penelitian.....	24
Gambar 3.3	Rangkaian alat pengukuran viskositas intrinsik.....	27
Gambar 3.4	Garis dasar untuk baseline penentuan derajat deasetilasi.....	29
Gambar 3.5	Mekanisme reaksi oligoglukosamine terhadap potasium ferricyanide.....	30
Gambar 4.1	Kitosan Larut dalam Larutan Asam Asetat 1%.....	34
Gambar 4.2	Reaksi depolimerisasi akibat penambahan asam.....	35
Gambar 4.3	Mekanisme reaksi deprotonasi kitosan.....	37
Gambar 4.4	Pengaruh persentase amplitudo generator ultrasonik terhadap intensitas gelombang ultrasonik.....	38
Gambar 4.5	Pengaruh penambahan persentase amplitudo (%) generator ultrasonik terhadap ratio penurunan berat molekul produk degradasi kitosan.....	40
Gambar 4.6	Difatogram XRD dari hasil analisa <i>insoluble</i> produk untuk setiap variasi amplitudo generator ultrasonik.....	41
Gambar 4.7	Spektrum FTIR hasil analisa <i>insoluble</i> produk degradasi untuk sonikasi pada variasi amplitudo generator ultrasonik.....	43
Gambar 4.8	Pengaruh jumlah tahapan sonikasi terhadap penurunan berat molekul rata-rata <i>insoluble</i> produk pada amplitudo 50% dan 60%.....	45
Gambar 4.9	Grafik Hubungan Ratio Penurunan Berat Molekul Kitosan terhadap Jumlah Tahapan Sonikasi pada Amplitudo 50% dan 60%.....	46
Gambar 4.10	Bentuk morfologi struktur <i>insoluble</i> produk hasil analisa SEM pada : a. kitosan murni; b. amplitudo 50% tahap 3; c.	

	amplitudo 60% tahap 3.....	48
Gambar 4.11	Difatogram hasil analisa xrd pada <i>unsoluble</i> produk untuk setiap tahapan sonikasi pada amplitudo 50%.....	49
Gambar 4.12	Difatogram hasil analisa xrd pada <i>unsoluble</i> produk untuk setiap tahapan sonikasi pada amplitudo 60%.....	49
Gambar 4.13	Ilustrasi proses pemotongan rantai kitosan pada daerah amorf..	50
Gambar 4.14	Pengaruh jumlah tahapan sonikasi terhadap penurunan derajat deasitisasi <i>unsoluble</i> produk pada amplitudo generator ultrasonik 50% dan 60%.....	51
Gambar 4.15	Spektrum FTIR dari produk degradasi kitosan hasil sonikasi bertahap pada amplitudo generator ultrasonik 50%.....	52
Gambar 4.16	Spektrum FTIR dari produk degradasi kitosan hasil sonikasi bertahap pada amplitudo generator ultrasonik 60%.....	53
Gambar 4.17	Spektrum LC-Ms hasil analisa <i>soluble</i> produk pada amplitudo generator ultrasonik 50% tahap 1.....	55
Gambar 4.18	Distribusi <i>soluble</i> produk hasil analisa Lc/Ms pada proses sonikasi bertahap pada amplitudo generator ultrasonik 50% dan 60%.....	56

## Apendik

Gambar A.1	Grafik hubungan waktu terhadap suhu amplitudo 30%.....	A-1
Gambar A.2	Grafik hubungan waktu terhadap suhu amplitudo 60%.....	A-1
Gambar A.3	Penentuan heating rate selama proses sonikasi.....	A-2
Gambar A.1.1.1	Kurva larutan standar penentuan end grup analysis.....	A-5
Gambar A.1.2.1	Spektrum LC-Ms pada amplitudo 50% tahap 1.....	A-6
Gambar A.1.2.2	Spektrum LC-Ms pada amplitudo 50% tahap 3.....	A-6
Gambar A.1.2.3	Spektrum LC-Ms pada amplitudo 50% tahap 5.....	A-7
Gambar A.1.2.4	Spektrum LC-Ms pada amplitudo 60% tahap 1.....	A-7
Gambar A.1.2.5	Spektrum LC-Ms pada amplitudo 60% tahap 3.....	A-7
Gambar A.1.2.6	Spektrum LC-Ms pada amplitudo 60% tahap 5.....	A-8
Gambar A.2.1.1	Grafik hubungan (viskositas spesifik/ konsentrasi) terhadap konsentrasi.....	A-10
Gambar A.2.2.1	Struktur rantai kitosan.....	A-12
Gambar A.2.2.2	Spektrum FT-IR pada variasi amplitudo generator ultrasonik....	A-13
Gambar A.2.2.3	Spektrum FT-IR pada variasi jumlah tahapan sonikasi untuk amplitudo 50%.....	A-14
Gambar A.2.2.4	Spektrum FT-IR pada variasi jumlah tahapan sonikasi untuk amplitudo 60%.....	A-15
Gambar A.2.2.5	Cara penentuan base line b.....	A-16
Gambar A.2.3.1	Hasil analisa XRD Kitosan Murni.....	A-18
Gambar A.2.3.2	Hasil analisa XRD Amplitudo 50%.....	A-19
Gambar A.2.3.3	Hasil analisa XRD Amplitudo 55%.....	A-19
Gambar A.2.3.4	Hasil analisa XRD Amplitudo 60%.....	A-20
Gambar A.2.3.5	Hasil analisa XRD Amplitudo 70 %.....	A-21
Gambar A.2.3.6	Hasil analisa XRD Amplitudo 50 % Tahap 3.....	A-21
Gambar A.2.3.7	Hasil analisa XRD Amplitudo 50 % Tahap 4.....	A-22

Gambar A.2.3.8	Hasil analisa XRD Amplitudo 50 % Tahap 5.....	A-23
Gambar A.2.3.9	Hasil analisa XRD Amplitudo 50 % Tahap 6.....	A-23
Gambar A.2.3.10	Hasil analisa XRD Amplitudo 50 % Tahap 1.....	A-24
Gambar A.2.3.11	Hasil analisa XRD Amplitudo 50 % Tahap 2.....	A-25
Gambar A.2.3.12	Hasil analisa XRD Amplitudo 50 % Tahap 3.....	A-26
Gambar A.2.3.13	Hasil analisa XRD Amplitudo 50 % Tahap 4.....	A-27
Gambar A.2.3.14	Hasil analisa XRD Amplitudo 50 % Tahap 5.....	A-28
Gambar A.2.3.15	Hasil analisa XRD Amplitudo 50 % Tahap 6.....	A-29

## DAFTAR NOTASI

<b>Simbol</b>	<b>Keterangan</b>	<b>Satuan</b>
$M_v$	Berat Molekul Viskometri	Da
$M_n$	Number Avarage Molecular Weight	
DD	Derajat Deasitilasi	%
$A_{\text{amorf}}$	Luasan kurva di bawah kurva XRD bagian amorf	-
$A_{\text{crystal}}$	Luasan kurva di bawah kurva XRD bagian kristal	-
$A_{\text{total}}$	Luasan kurva total di bawah kurva XRD	-
$X_c$	Derajat kristalinitas	%

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Serapan karakteristik dari spektra FTIR kitin dan kitosan.....	6
Tabel 4.1	Hasil penentuan power ultrasonik dan Intensitas ultrasonik (UI).....	39
Tabel 4.2	Pengaruh penambahan amplitudo generator ultrasonik terhadap perubahan berat molekul rata rata (Mv) produk degradasi.....	40
Tabel 4.3	Hasil analisa <i>metode end group analysis</i> pada proses sonikasi bertahap untuk amplitudo generator ultrasonik 50% dan 60%.....	54
Tabel 4.4	Perubahan sifat produk setelah dilakukan proses sonikasi bertahap untuk amplitudo generator ultrasonik 50% dan 60%.....	57

### Apendik

Tabel A.1	Hasil Pengukuran Power dan Intensitas Ultrasonik	A-3
Tabel A.1.1.1	Kurva Standart.....	A-4
Tabel A.1.2.1	<i>Jenis Pseudomolecular ions</i> hasil analisa Lc/Ms .....	A-8
Tabel A.2.1.1	Hasil Perhitungan Waktu Rata-Rata.....	A-9
Tabel A.2.1.2	Hasil Perhitungan Viskositas <i>Inherent</i> .....	A-10
Tabel A.2.1.3	Perubahan viskositas intrinsik dan berat molekul rata-rata disetiap tahapan sonikasi.....	A-11
Tabel A.2.1.4	Hasil penentuan ratio penurunan berat molekul.....	A-12
Tabel A.2.2.1	Gugus fungsi rantai kitosan setelah dan sebelum sonikasi pada variasi amplitudo.....	A-13
Tabel A.2.2.2	Gugus fungsi rantai kitosan setelah dan sebelum sonikasi pada variasi variasi jumlah tahapan sonikasi untuk amplitudo 50%.....	A-14
Tabel A.2.2.3	Gugus fungsi rantai kitosan setelah dan sebelum sonikasi pada variasi variasi jumlah tahapan sonikasi untuk amplitudo 60%.....	A-15
Tabel A.2.3.1	Hasil analisa XRD Kitosan Murni.....	A-18
Tabel A.2.3.2	Hasil analisa XRD Amplitudo 50%.....	A-19
Tabel A.2.3.3	Hasil analisa XRD Amplitudo 55%.....	A-20
Tabel A.2.3.4	Hasil analisa XRD Amplitudo 60%.....	A-20
Tabel A.2.3.5	Hasil analisa XRD Amplitudo 70%.....	A-21
Tabel A.2.3.6	Hasil analisa XRD Amplitudo 50%.Tahap 3.....	A-22
Tabel A.2.3.7	Hasil analisa XRD Amplitudo 50%.Tahap 4.....	A-22
Tabel A.2.3.8	Hasil analisa XRD Amplitudo 50%.Tahap 5.....	A-23
Tabel A.2.3.9	Hasil analisa XRD Amplitudo 50%.Tahap 6.....	A-24
Tabel A.2.3.10	Hasil analisa XRD Amplitudo 60%.Tahap 1.....	A-25

Tabel A.2.3.11	Hasil analisa XRD Amplitudo 60%. Tahap 2.....	A-26
Tabel A.2.3.12	Hasil analisa XRD Amplitudo 60%. Tahap 3.....	A-27
Tabel A.2.3.13	Hasil analisa XRD Amplitudo 50%. Tahap 4.....	A-28
Tabel A.2.3.14	Hasil analisa XRD Amplitudo 50%. Tahap 5.....	A-29
Tabel A.2.3.15	Hasil analisa XRD Amplitudo 50%. Tahap 6.....	A-30



# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Kitosan adalah suatu polisakarida berbentuk linier yang terdiri dari monomer N-asetilglukosamin (GlcNAc) dan D-glukosamin (GlcN) (Alistair, 1995). Kitosan terbentuk dari hasil derivatif kitin yang merupakan jenis polisakarida terbanyak ke dua di bumi setelah selulosa. Kitosan dapat ditemukan pada eksoskeleton invertebrata dan beberapa fungi pada dinding selnya. Kitosan memiliki sifat biodegradable, tidak beracun, dan biokompatibel. Karena sifatnya yang unik tersebut, bahan ini banyak diaplikasikan dalam beberapa bidang, seperti pertanian, pengolahan air (W. Wan Ngah, dkk, 2011), industri bahan makanan (Agullo, dkk, 2003) dan dalam dunia farmasi (H. Ueno, 2001). Namun, karena berat molekulnya masih tinggi di rentang  $10^6$  Da mengakibatkan kelarutannya rendah dalam air, sehingga pemanfaatan kitosan menjadi terbatas.

Produk derivatif kitosan yang berupa kitosan dengan berat molekul rendah memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan kitosan murni, antara lain; *fat-binding*, *antithrombotic activity*, anti tumor, dan anti mikrobial (Yongchun, dkk ,2012). Sehingga produk tersebut lebih aplikatif dibandingkan dengan kitosan murni. Selain itu, produk dari hasil degradasi kitosan dapat berupa oligomer kitosan dan monomer glukosamin yang bernilai ekonomi sangat tinggi. Oleh karena itu, diperlukan suatu proses degradasi untuk menghasilkan produk derivatif kitosan.

Secara umum, terdapat empat metode yang dapat digunakan untuk mendegradasi kitosan, yaitu dengan cara kimiawi, fisika, enzimatik dan radiasi. Apabila dibandingkan dengan metode kimiawi dan enzim, metode secara fisika memiliki beberapa keunggulan, diantaranya biaya rendah, prosesnya yang mudah, tidak membutuhkan banyak penambahan bahan kimia, dan tidak mengakibatkan perubahan signifikan terhadap bahan baku yang digunakan (Yongchun, dkk, 2012; Dolatowski dkk, 2007). Sehingga metode secara fisika menjadi pilihan untuk mendegradasi polimer.

Salah satu contoh dari metode degradasi secara fisika adalah proses sonikasi. Proses sonikasi dilakukan dengan menggunakan gelombang ultrasonik. Penggunaan gelombang ultrasonik dalam larutan dapat menimbulkan kavitasi. Energi yang dihasilkan selama proses kavitasi dapat berupa suhu dan tekanan yang sangat tinggi (kurang lebih 5000K dan 50 MPa) sehingga cukup kuat untuk mendegradasi polimer dengan cara merusak di bagian tengah rantai (Suslik, 1989).

Feng, dkk (2004) melaporkan bahwa radikal yang terbentuk setelah proses kavitasi dapat digunakan untuk memutus ikatan  $\beta$  1,4 glikosidik pada rantai kitosan sehingga berat molekul kitosan menjadi berkurang. Yongchun, dkk (2012) melaporkan bahwa larutan kitosan dapat didegradasi dengan menggunakan *hydrodynamic cavitation* pada konsentrasi larutan  $1.5 \text{ gL}^{-1}$ , pH dan waktu sonikasi 3 jam, berat molekul produk yang dihasilkan berkurang dari 1200 kDa menjadi 560 kDa atau berkurang 53 %. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Anita (2013) bahwa proses sonikasi pada  $40^\circ\text{C}$  selama 120 menit dengan penambahan asam asetat 0,2% v/v dapat menurunkan berat molekul kitosan dari 3700 kDa menjadi 280 kDa. Pada proses tersebut berat molekul kitosan yang dihasilkan sudah rendah namun masih masuk dalam katagori berat molekul medium kitosan (190 – 310 kDa) dan belum bersifat *water soluble*.

Pada sistem sonikasi, proses terjadinya kavitasi dipengaruhi oleh intensitas gelombang ultrasonik. Besarnya intensitas gelombang ultrasonik sangat bergantung pada jumlah energi gelombang ultrasonik yang ditransmisikan ke medium cairan M.D. Luque de Castro dan F. Priego Capote : 2007). Gj.Price (1994) melaporkan bahwa nilai konstanta kecepatan reaksi meningkat dengan bertambahnya intensitas gelombang ultrasonik dan adanya nilai optimum, sekitar  $145 \text{ Wcm}^{-2}$ , sehingga di bawah kondisi ini, nilai konstan kecepatan reaksi memiliki nilai yang maksimum.

Sonikasi sebagai insiator pemotongan rantai polimer, memiliki keterbatasan di dalam aplikasinya. Beberapa peneliti telah menyimpulkan bahwa adanya batasan penurunan berat molekul produk yang dihasilkan dari sistem tersebut. Gareth (1992) melakukan proses degradasi polystyrene dalam larutan toluene 0,5% w/v pada variasi intensitas ( $\text{W.cm}^{-2}$ ):183.7; 144.1; 89.8; 48.9 dan

disimpulkan bahwa semakin kecil intensitas maka berat molekul polystyrene hasil degradasi semakin berkurang dan pada produk degradasi tersebut memiliki batasan penurunan berat molekul yang dihasilkan.

Sehingga, berdasarkan uraian yang telah dijelaskan, dapat diketahui bahwa metode sonikasi dapat digunakan untuk mendegradasi kitosan menjadi produk derivatif kitosan. Penambahan amplitudo pada sistem sonikasi dapat mempengaruhi proses terjadinya kavitasi saat proses degradasi berlangsung dan telah diketahui bahwa sistem sonikasi memiliki karakteristik berupa adanya batasan minimum berat molekul yang diperoleh. Oleh karena itu, untuk mendapatkan produk berupa LMWC dan oligomer kitosan, pada sistem sonikasi perlu dilakukan penambahan amplitudo dan pemrosesan kembali produk hasil degradasi kitosan yang masih bersifat *unsoluble* produk (dengan berat molekul medium).

## **1.2. Perumusan Masalah**

Gelombang ultrasonik telah diketahui dapat menghasilkan energi yang cukup tinggi sehingga mampu membentuk radikal dan kemudian menginisiasi ikatan glikosidik kitosan. Besarnya jumlah energi gelombang ultrasonik yang ditransmisikan ke medium cairan ditentukan oleh besarnya persen amplitudo dari generator ultrasonik. Kemudian dari generator ultrasonik, power ultrasonik akan disebarkan oleh probe ultrasonik dengan radius  $r$  (cm) sehingga dapat meningkatkan intensitas sonikasi dan nantinya juga akan berpengaruh pada proses terjadinya kavitasi. Oleh karena itu perlu dilakukan variasi penambahan persen amplitudo dari generator ultrasonik untuk mengetahui bagaimana pengaruhnya terhadap perubahan produk hasil degradasi kitosan.

Selain itu, sistem sonikasi telah diketahui memiliki keterbatasan di dalam proses degradasi (pemotongan rantai). Tidak semua rantai polimer dapat terpotong. Oleh karena itu, untuk meminimalkan adanya batasan berat molekul tersebut perlu dilakukan proses sonikasi secara bertahap dengan cara melakukan sonikasi kembali terhadap produk kitosan berat molekul tinggi (*unsoluble*) pada larutan asam asetat yang masih baru sampai dihasilkan produk dengan berat molekul rendah (LMWC). Sehingga melalui proses sonikasi bertahap diharapkan

akan mendapatkan produk oligoglukosamin dengan persen yield yang meningkat. Selain itu adanya distribusi produk degradasi dari proses sonikasi bertahap dapat dipetakan secara makro mengenai perubahan sifat fisis dan kimia baik produk terlarut maupun tidak terlarut yang meliputi penurunan berat molekul derajat kristalinitas, derajat deasitilasi, dan derajat depolimerisasi.

### **1.3. Tujuan Penelitian**

1. Mempelajari pengaruh penambahan presentase amplitudo sonikasi terhadap sifat fisis (derajat kristalinitas) dan sifat kimia (berat molekul dan derajat deasitilasi) produk hasil degradasi.
2. Mempelajari pengaruh jumlah tahapan sonikasi terhadap sifat fisis (derajat kristalinitas) dan sifat kimia (berat molekul dan derajat deasitilasi) produk hasil degradasi.
3. Memperoleh kondisi proses degradasi kombinasi sonikasi bertahap sehingga dihasilkan glukosamin dengan persen yield yang tinggi.

### **1.4. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat antara lain:

1. Peluang untuk memanfaatkan kitosan sebagai bahan yang melimpah di alam untuk diubah menjadi senyawa yang bernilai ekonomi tinggi dan dapat diaplikasikan dalam banyak bidang seperti farmasi, bahan makanan, dan industri.
2. Memberikan informasi mengenai metode ramah lingkungan dengan proses yang dapat di kontrol untuk mendegradasi kitosan menjadi kitosan dengan berat molekul yang rendah (LMWC), oligomer kitosan (COS) dan glukosamin yang dapat larut dalam air.

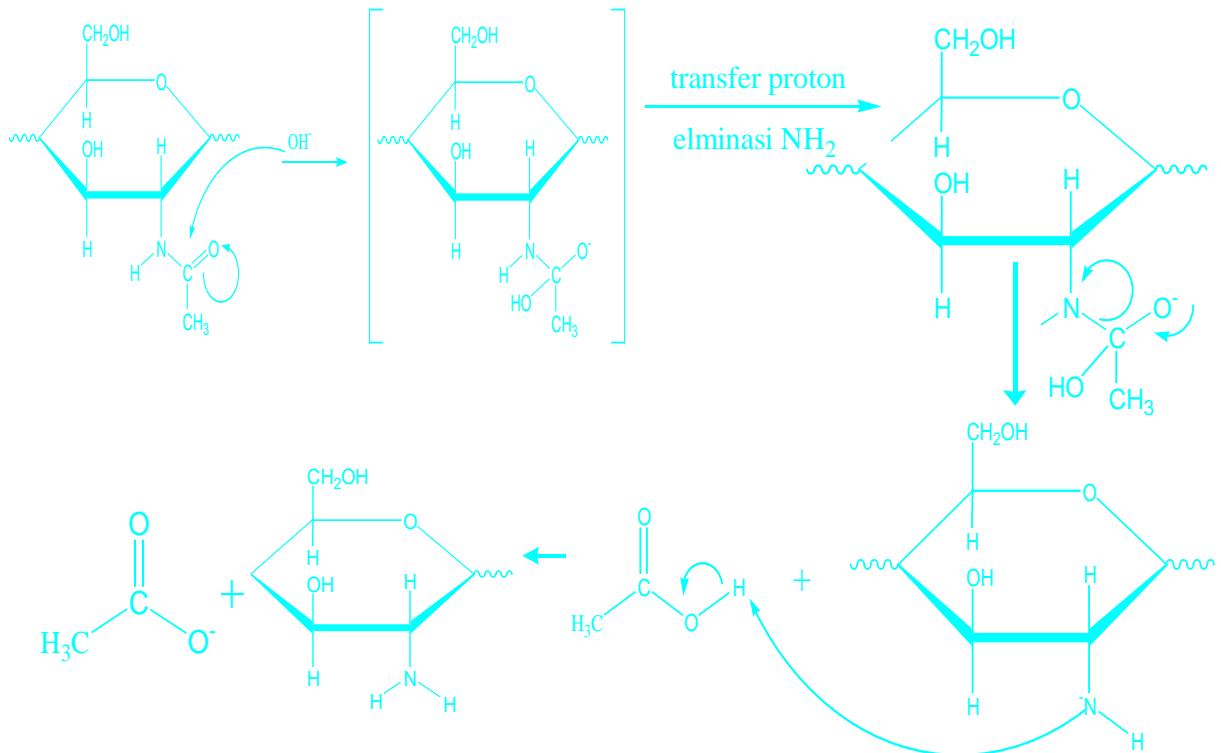
## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

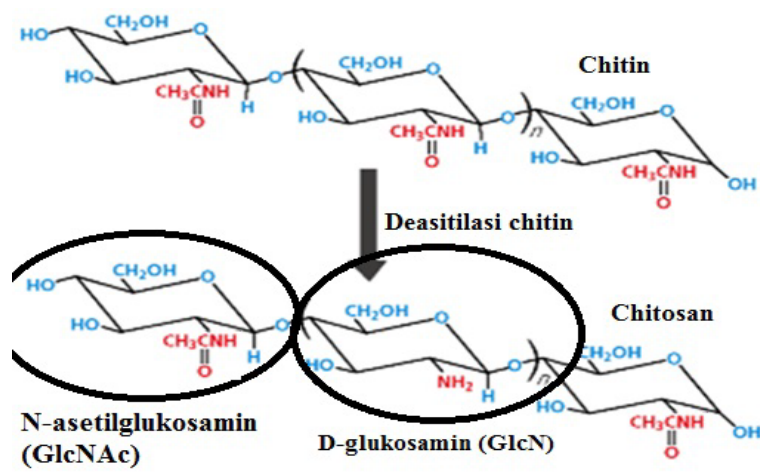
#### 2.1. Kitosan

##### 2.1.1. Properti Kitosan

Kitosan yang merupakan turunan dari kitin, merupakan suatu polisakarida berbentuk linier yang terdiri dari monomer N asetilglukosamin (GlcNAc) dan D-glukosamin (GlcN) (Alistair, M.S, 1995). Kitin merupakan penyusun kulit hewan-hewan krustasea, seperti udang, kerang, dan juga eksoskeleton dari serangga serta dinding sel dari beberapa jenis fungi.



Gambar 2.1. Mekanisme deasetilasi kitin menjadi kitosan



Gambar 2.2. Perubahan struktur rantai pada gugus asetil dari kitin menjadi gugus amina pada kitosan pada proses deasetilasi kitin menjadi kitosan

Proses deasetilasi kitin menggunakan larutan NaOH pekat bertujuan untuk mengubah gugus asetil dari kitin menjadi gugus amina pada kitosan seperti pada Gambar 2.2.. Perubahan ini dapat dideteksi dengan melihat perubahan spektrum IR kitin dengan hasil deasetilasinya pada panjang gelombang tertentu yang karakteristik. Gugus fungsi yang karakteristik dari spektra FTIR kitin dan kitosan dapat dilihat pada (Gyliene dkk., 2003).

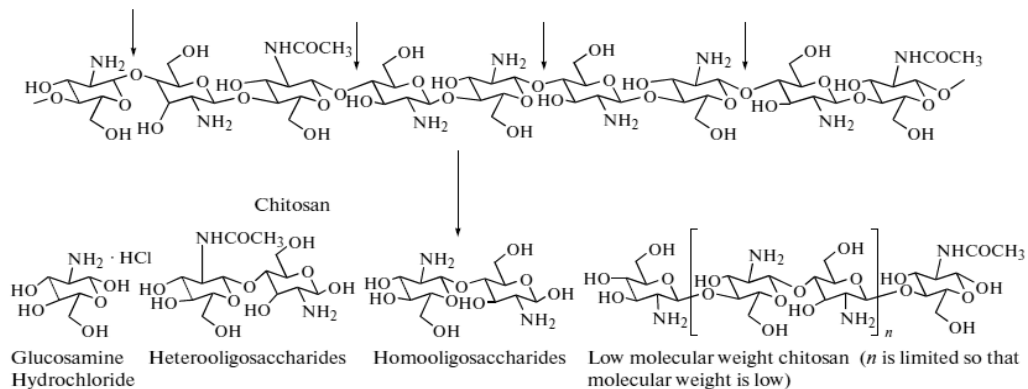
Tabel 2.1. Serapan karakteristik dari spektra FTIR kitin dan kitosan

Jenis Vibrasi	Bilangan Gelombang (cm <sup>-1</sup> )	
	Kitin	Kitosan
OH <i>stretching</i>	3500	3450,3340
NH (-NH <sub>2</sub> ) <i>stretching</i>	-	3400
NH (-NHCOCH <sub>3</sub> -) <i>stretching</i>	3265, 3100	-
CH(CH <sub>3</sub> ) <i>stretching</i>	2961(lemah)	-
CH (-CH <sub>2</sub> -) <i>stretching asym</i>	2928	2926
CH (-CH <sub>2</sub> -) <i>stretching sym</i>	2871	2864
C=O (-NHCOCH <sub>3</sub> -) <i>stretching</i>	1655	1650 (lemah)
NH (-NHCOCH <sub>3</sub> -) <i>bending</i>	1560	-
CN (-NHCOCH <sub>3</sub> -) <i>stretching</i>	1310	-
NH (R-NH <sub>2</sub> ) <i>bending</i>	-	1596
CN <i>stretching</i>		1200-1020
CH (-CH <sub>2</sub> -) <i>bending asym</i>	1426	1418
CH (-CH <sub>2</sub> -) <i>bending sym</i>	1378	1377
C-O (-C-O-C-) <i>stretching asym</i>	1077	1082
C-O (-C-O-C-) <i>stretching sym</i>	1024	1033

(Gyliene dkk., 2003)

Kitosan memiliki sifat biodegradable, tidak beracun, dan biokompatibel. Karena sifatnya yang unik tersebut, bahan ini banyak diaplikasikan dalam beberapa bidang, seperti pertanian, pengolahan air, pemrosesan bahan makanan dan dalam dunia farmasi. Namun, karena berat molekulnya masih tinggi dan kelarutannya dalam air yang rendah, maka pemanfaatan kitosan menjadi terbatas. Oleh karena itu, diperlukan suatu metode untuk menghasilkan kitosan dengan berat molekul yang lebih rendah, yaitu dengan melakukan degradasi pada kitosan (Yongchun, dkk ,2012).

Sebagai polimer, kitosan dapat terhidrolisa (degradasi hidrolisis) karena adanya ikatan glikosidik pada molekulnya. Hidrolisa kitosan ini menghasilkan kitosan dengan derajat polimerisasi dan berat molekul yang rendah. Produk hasil hidrolisa kitosan memiliki beberapa keunggulan antara lain; *fat-binding*, *antithrombotic activity*, anti tumor, dan anti mikrobial (Yongchun, dkk ,2012). Beberapa kemungkinan produk yang dapat dihasilkan dari proses degradasi kitosan diperlihatkan pada Gambar 2.3.



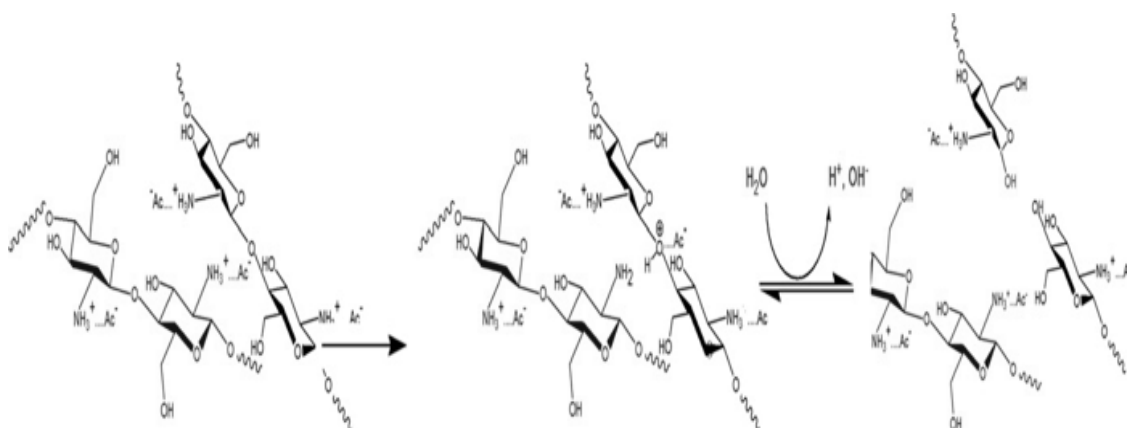
Gambar 2.3. Produk Degradasi Kitosan (V.K.Mourya, 2011)

### 2.1.2. Kelarutan Kitosan

Kitosan larut dengan cepat dalam asam organik seperti asam formiat, asam sitrat dan asam asetat). Kitosan larut pada kebanyakan larutan asam organik pada pH sekitar 4,0, tetapi tidak larut pada pH lebih besar dari 6,5 (seperti pada air). Kelarutan yang rendah di dalam air ini disebabkan terbentuknya jaringan hidrogen

yang kuat oleh gugus hidroksil dan amin dalam strukturnya. Selain itu, kelarutan kitosan dipengaruhi oleh berat molekul, derajat deasetilasi dan metode isolasi.

Salah satu jenis asam yang dapat melarutkan kitosan adalah asam asetat. Pada lautan asam asetat  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , ion  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  lebih elektronegatif daripada elektron  $\text{H}^+$ . sehingga, elemen dengan tingkat elektronegatifan lebih tinggi cenderung menyerang elektron untuk keluar dari lintasannya (Israelachvili 2011). Elektron  $\text{H}^+$  akan terdorong keluar (terekstisasi) kemudian berinteraksi dengan gugus amina  $-\text{NH}_2$  pada rantai kitosan. Sehingga gugus amina terprotonasi menjadi ion  $\text{NH}_3^+$  dan menyebabkan kitosan terlarut dalam asam asetat. Pada kondisi pengadukan yang tetap dan reaksi temperatur tinggi akan terjadi belitan antara amina terprotonasi dengan ikatan glikosidik. Selanjutnya adalah terjadinya protonasi atom glikosidik oksigen. Sehingga apabila hasil protonasi ikatan glikosidik bereaksi dengan air dapat menghasilkan gula tereduksi seperti pada Gambar 2.4 (Tsao, dkk., 2011).



Gambar. 2.4. Reaksi depolimerisasi akibat penambahan asam

### 2.1.3. Derajat Deasetilasi Kitosan

Derajat deasetilasi adalah persentasi gugus asetilasi yang berhasil dihilangkan selama proses deasetilasi. Derajat deasetilasi berperan penting dalam proses penyerapan. Pertambahan nilai derajat deasetilasi menyebabkan bertambahnya jumlah gugus amina bebas (Milot dkk, 1998).

Beberapa publikasi menyatakan bahwa derajat deasetilasi membawa pengaruh pada sifat fisik dan fisikokimia pada porositas, viskositas, dan titik leburnya. Derajat deasetilasi pada pembuatan kitosan bervariasi dengan jumlah

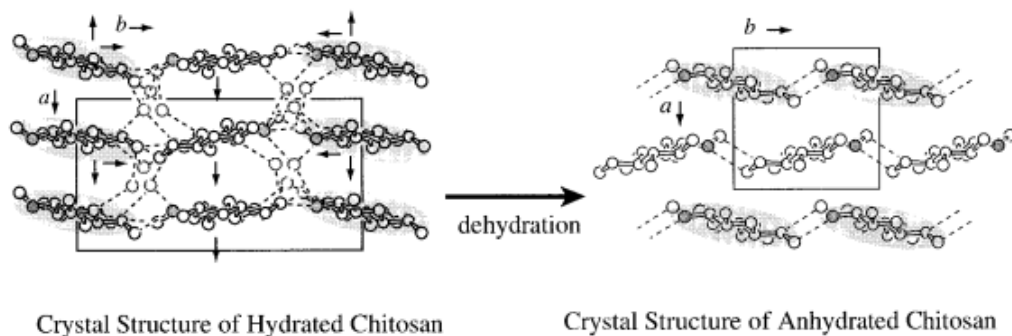


larutan alkali yang digunakan, waktu reaksi, dan suhu reaksi. Biasanya kualitas produk kitosan dinyatakan dengan besarnya nilai derajat deasetilasi (Muzzarelli,1985).

Secara umum derajat deasetilasi untuk khitosan sekitar 60 %, dan sekitar 90 – 100% untuk khitosan yang mengalami deasetilasi penuh. Harga ini tergantung dari bahan baku kitin yang digunakan dan proses yang dijalankan (Suhardi, 1992).

#### 2.1.4. Derajat Kristalinitas

Derajat kristalinitas adalah derajat kemungkinan terbentuknya susunan kristalin dalam bentuk rantai (Retno, 2011). .Kitosan dapat diperoleh dengan berbagai macam bentuk morfologi diantaranya struktur yang tidak teratur, kristalin ataupun semi kristalin.. Menurut Ogawa (1991) re-kristalisasi terjadi ketika mobilitas molekul yang lebih tinggi daripada spesies terhidrolisa .



Gambar 2.5. Kemungkinan transformasi keadaan solid dari bentuk hidrat menjadi anhidrat tendon kitosan. Warna gelap menunjukkan rantai polimer. (Okuyama dkk, 1997)

Sedangkan menurut Okuyama, dkk (1997) re-kristalisasi terjadi karena adanya perubahan bentuk dari hidrat menjadi anhidrat kitosan adalah seperti Gambar 2.5. ketika terjadi dehidrasi, untuk mengisi ruang antara dua molekul air yang ada, semua molekul (pada Gambar 2.5 ditunjukkan dengan arah panah ke bawah dan tidak berwarna pada kitosan hidrat) bergeser sepanjang axis a dengan memutus ikatan hidrogen antara rantai polimer yang bertetangga. Pada waktu yang sama, penyusutan sepanjang b dan pembesaran sepanjang a mengambil

tempat untuk membentuk struktur lapisan yang lain (pada kitosan anhidrat). Pada kondisi anhidrat struktur kristal akan lebih teratur.

## 2.2. Oligomer Kitosan

Oligomer kitosan merupakan campuran oligomer dari D-glukosamin, yang terbentuk melalui proses depolimerisasi kitosan dengan memutus ikatan  $\beta$ -1,4 glikosidik. Proses depolimerisasi terjadi melalui pemutusan ikatan  $\beta$ -1,4 glikosidik, sehingga akan mempunyai bobot molekul yang lebih kecil daripada kitosan sebelum terdepolimerisasi. Secara umum, kitosan oligomer merupakan gula amino dengan bobot molekul rendah dengan derajat depolimerisasi 20.3 dan memiliki berat molekul rata-rata sekitar 2.000 g/mol serta tidak bersifat toksik. Berkurangnya bobot molekul dari kitosan tersebut akan menyebabkan sifat kelarutan yang semakin besar (Srijanto, 2006).

Beberapa penelitian telah melaporkan tentang manfaat oligomer kitosan; Yeon dkk., (2004) melaporkan bahwa heksa N-asetil chitoheksaose dan chitoheksaose memiliki pengaruh menghambat sel tumor *Meth A-Solid*; Shen (2002) juga melaporkan kitosan yang larut dalam air secara signifikan dapat menghambat proliferasi sel kanker ASG; Pae (2001) melaporkan terjadinya induksi granulistik pada sel *promyelocytic leukemia* (HL-60) oleh *water-soluble chitosan oligomer* (WSCO). Selain sebagai zat anti kanker beberapa peneliti juga melaporkan bahwa aktivitas oligomer kitosan dapat berfungsi sebagai anti bakteri (Rhoades dan Roller (2000) dan Meidina (2005)) serta Dodane dan Vilivalam (1998) melaporkan bahwa oligomer kitosan dengan berat molekul (8000-10.000 Da) berperan sebagai zat anti kolesterol.

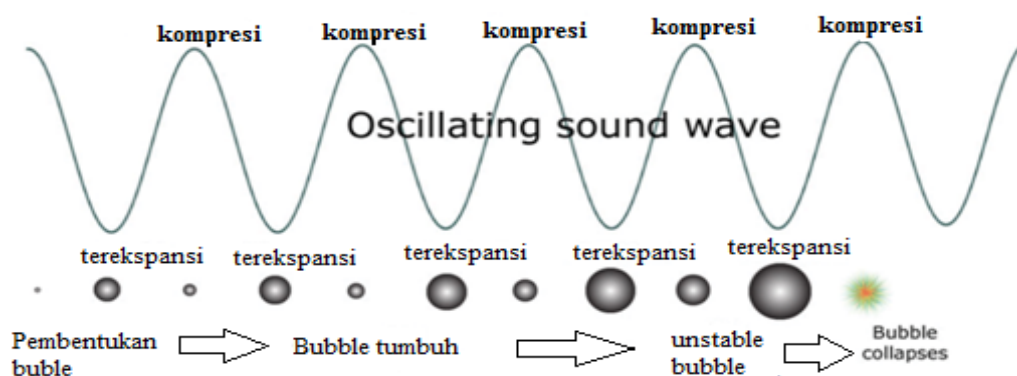
Produk degradasi kitosan yang lebih sederhana berupa glukosamin, dengan berat molekul 179,17 g/mol. Senyawa dengan rumus kimia  $C_6H_{13}NO_5$  ini diproduksi secara alami oleh tubuh untuk membentuk glikosaminoglikan, protein pembentuk tulang rawan. Keunggulan dari glukosamin adalah dapat membantu membangun tulang sendi, tendon, tulang rawan, dan jaringan otot, sehingga dipercaya dapat mengobati *osteoarthritis* (*arthritis* yang menyerang tulang rawan). Dalam perusahaan lokal, glukosamin dikombinasikan dengan klorida atau sulfat sebagai penstabil/ *stabilizer*. Glukosamin tersedia dalam beberapa bentuk:

glukosamin sulfat (GS) yang distabilkan oleh natrium klorida atau kalium klorida, glukosamin hidroklorida (GH) dan N-asetil glukosamin (NAG).

## 2.3. Sonikasi

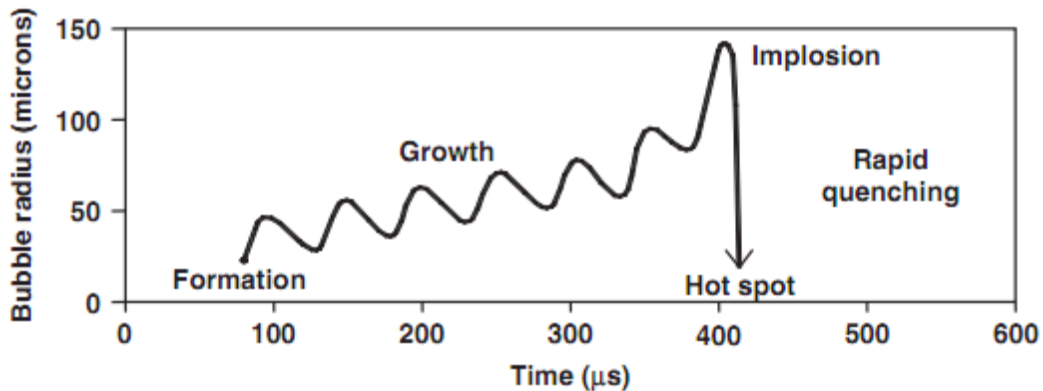
### 2.3.1. Gelombang Ultrasonik

Gelombang ultrasonik (*Ultrasonic waves*) merupakan gelombang mekanik longitudinal dengan frekuensi di atas 20 kHz yaitu daerah di atas batas pendengaran manusia. Gelombang ultrasonik dapat merambat dalam medium padat, cair dan gas. Proses perambatannya secara longitudinal dengan arah rambat sejajar. Sehingga, karakteristik gelombang ultrasonik tersebut mengakibatkan getaran partikel secara periodik. Karena prosesnya kontinyu maka dapat menyebabkan partikel medium membentuk rapatan (*Strain*) dan tegangan (*Stress*) (Thomas,dkk, 2011).



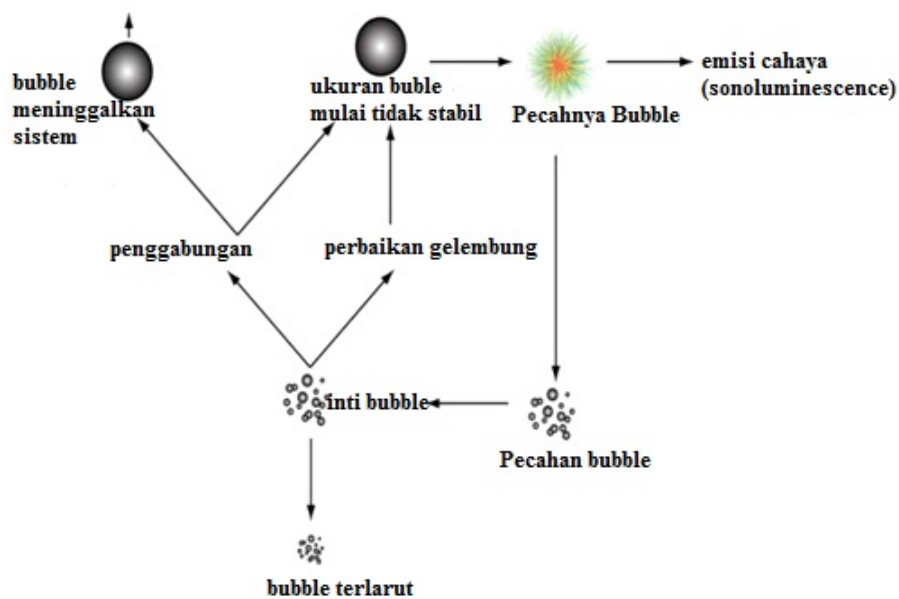
Gambar 2.6. Meanisme kavitasi yang diakibatkan oleh gelombang ultrasonik (Thomas,dkk, 2011)

Efek gelombang ultrasonik menyebabkan tekanan cairan tersebut akan bertambah dari keadaan semula pada saat gelombang tersebut mempunyai amplitudo positif dan akan berkurang pada saat amplitudo negatif. Akibat perubahan tekanan ini, maka gelembung-gelembung gas atau uap yang biasanya ada di dalam cairan seperti pada Gambar 2.6 akan terkompresi pada saat tekanan cairan naik dan akan terekspansi/mengembang pada saat tekanan cairan turun.



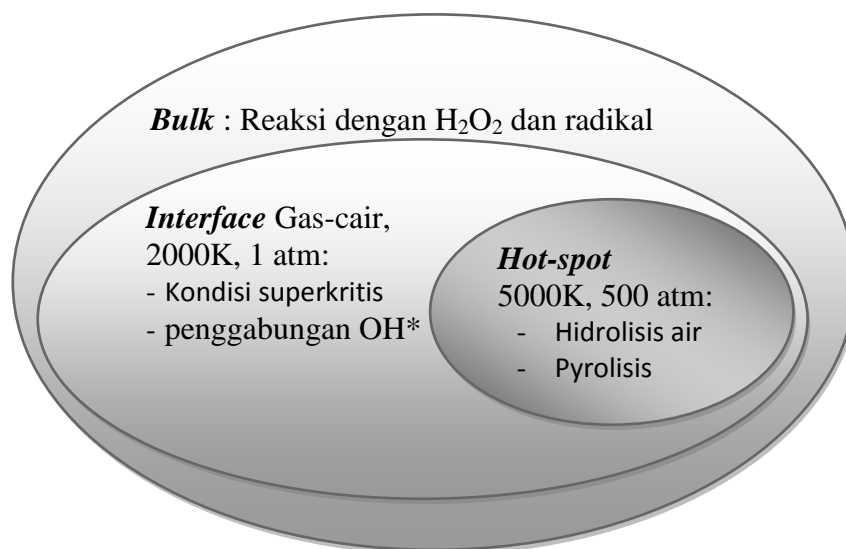
Gambar 2.7. Pertumbuhan gelembung ketika proses sonikasi berlangsung

Pada saat gelembung mengembang, gelembung tersebut membawa uap atau gas. Dengan tenaga yang cukup tinggi, proses ekspansi bisa melebihi gaya tarik molekul-molekul dalam larutan dan akan terbentuk kavitas gelembung. Selain itu, peristiwa kavitas dapat diakibatkan oleh ketidak stabilan gelembung karena adanya interferensi dari gelembung lain yang terbentuk dan beresonansi di sekitarnya. Akibatnya beberapa gelembung mengalami ekspansi mendadak sehingga pecah dengan hebat seperti pada Gambar 2.7. Peristiwa kavitas dengan pecahnya gelembung menyebabkan timbulnya reaksi sonochemical (pembentukan radikal)( Suslick,1989).



Gambar 2.8. Mekanisme *coalescence* dan *rectified diffusion* (Thomas,dkk, 2011)

Gelembung gas dalam cairan yang masih di bawah pengaruh gelombang bunyi dapat melakukan beberapa hal, seperti yang tertera pada Gambar 2.8. Gelembung dapat bertemu dengan gelembung lain dalam larutan kemudian menyatu dan membentuk gelembung besar. Peristiwa ini dikenal dengan istilah *coalescence*. Namun, pada gas yang telah jenuh, misalnya air pada kondisi tekanan ambang tertentu, *single bubble* dapat tetap tumbuh membesar dengan bertambahnya waktu. Peristiwa ini dikenal dengan *rectified diffusion*. Pembesaran gelembung yang diakibatkan oleh *coalescence* dan *rectified diffusion*, membesar hingga diperoleh *unstable size bubble* seperti pada Gambar. 2.8 Pembesaran tersebut dipengaruhi oleh besarnya resonansi gelombang bunyi (frekuensi dan amplitudo)( Thomas,dkk, 2011).



Gambar. 2.9. Zona reaksi pada proses kavitasi (Chowdhury P dan Viraraghavan, 2009)

Berdasarkan teori hot-spot, setiap *microbubble* dapat berperilaku sebagai *microreactor* yang dapat menghasilkan jenis radikal serta tingkatan suhu yang berbeda selama gelembung tersebut pecah (Vajnhdanl dan Marechal 2005). Berdasarkan profil suhu yang dijelaskan pada Gambar 2.9, terdapat tiga zona reaksi pada proses kavitasi,antara lain;

- a. *Thermolytic center (hot spot)*, terletak pada inti gelembung. Pada zona ini peristiwa kavitasi akan menghasilkan suhu (~5000 K) dan Tekanan (~500 atm). Selain itu, molekul air akan mengalami *pyrolyzed* dan membentuk OH\* dan H\*.
- b. Daerah *Interface*, terletak diantara daerah kavitasi gelembung dan *bulk liquid*. Pada zona ini, reaksi yang terjadi sama dengan daerah hot-spot namun pada zona ini terjadi pada fase larutan. Sehingga, terjadi reaksi tambahan, yaitu penggabungan OH\* membentuk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Pada zona ini, komponen hidrofobik lebih terkonsentrasi daripada *bulk solution*.
- c. *Bulk region*, pada zona ini suhu yang dihasilkan sama dengan suhu lingkungan. Karena pada daerah ini kavitasi terjadi akibat proses adiabatik. Sehingga, terjadi reaksi antar permukaan dan OH\* atau H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

### 2.3.2. Parameter yang Mempengaruhi Kavitasi

Terdapat beberapa parameter yang dapat mempengaruhi terbentuknya kavitasi dari gelombang ultrasonik, antara lain:

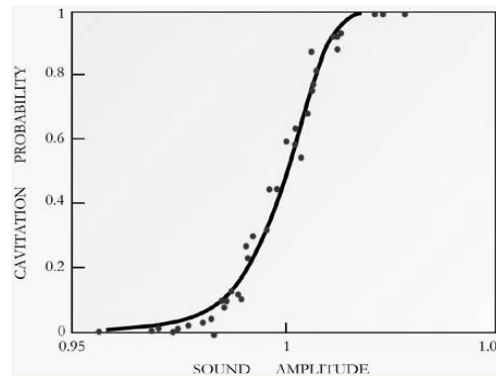
#### a. Frekuensi

Pada sonikasi frekuensi tinggi, orde MHz, produksi gelembung kavitasi menjadi lebih sulit daripada menggunakan frekuensi yang lebih rendah kHz. Agar terjadi kavitasi, saat frekuensi tinggi, intensitas gelombang bunyi juga harus lebih ditingkatkan untuk memastikan gaya kohesive pada media liquid telah terpenuhi dan telah terbentuk *void*. Oleh karena itu, dibutuhkan sepuluh kali energi lebih banyak untuk menginduksi kavitasi pada air di frekuensi 400 kHz daripada 10 kHz. Pada frekuensi yang tinggi, peristiwa kompresi dan dekompresi yang diakibatkan oleh gelombang ultrasonik menjadi lebih singkat. Sehingga, molekul dalam cairan tidak dapat dipisahkan untuk membentuk *void* dan kemudian kavitasi yang diperoleh tidak lama (Mason dan Lorimer, 1989).

#### b. Intensitas

Amplitudo dari vibrasi ultrasonik sebanding dengan besarnya intensitas sonikasi (Adewuyi, 2001). Sehingga semakin besar amplitudo maka

peluang terjadinya kavitasi semakin besar dan kemudian dapat meningkatkan efek *sonochemical* (reaksi pembentukan radikal) seperti pada Gambar 2.10 (Humphery,2000).

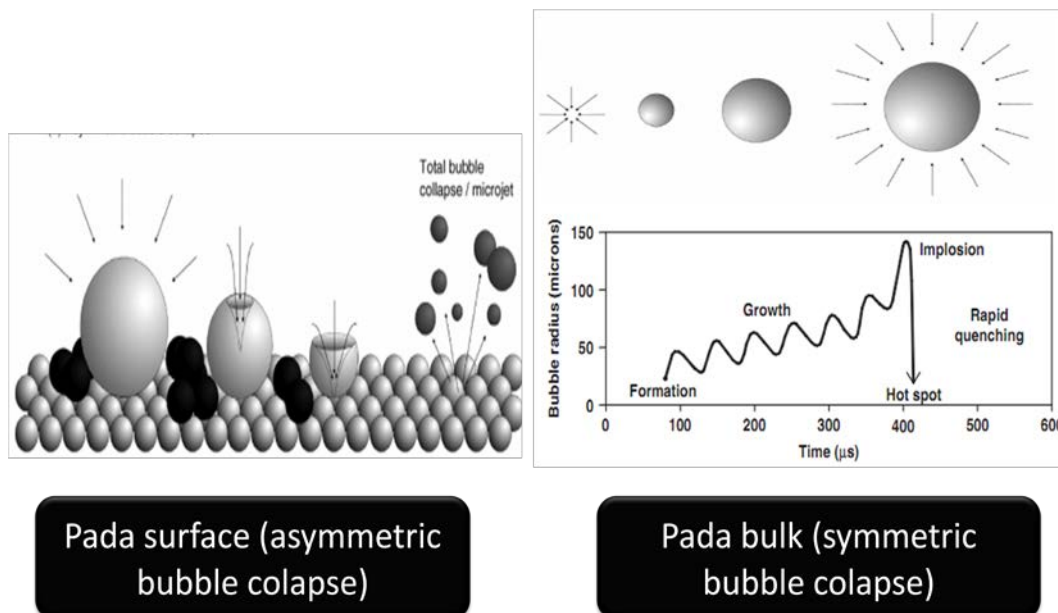


Gambar 2.10..Pengaruh amplitudo gelombang bunyi terhadap peluang terjadinya kavitasi

### c. Karakteristik Pelarut

Peristiwa kavitasi lebih mudah terbentuk pada solvent yang memiliki tekanan uap yang tinggi, viskositas rendah, dan tegangan permukaan yang rendah (Adewuyi 2001).

### d. Tipe dari kavitasi Ultrasonik



Gambar 2.11. Jenis *bubble colapse* ketika mengalami kavitasi *asymmetric bubble* (ketika fase heterogen) dan *symetric bubble* ketika fase homogen

Berdasarkan tipe dari kavitasi ultrasonik, dibedakan menjadi 2 macam:

a. *Fase heterogen*

Sistem yang heterogen akan mengakibatkan pertumbuhan *bubble* akan menjadi terganggu. Ketika *bubble* tumbuh dan kemudian berbenturan dengan permukaan padatan, maka *bubble* akan semakin membesar dan bersinggungan dengan permukaan padatan kitosan. Hal ini akan mengakibatkan adanya peristiwa *bubble collapse* dalam bentuk mikrojet *bubble*. *Bubble mikrojet* seperti pada Gambar 2.11, merupakan *bubble* dengan bentuk *asymetris* yang didalamnya berisi uap air atau gas dan dapat menghasilkan tekanan yang tinggi sehingga mampu merusak di permukaan padatan ( Banks, C.E. dan Compton, 2003) . Pada fase heterogen sonikasi diaplikasikan sebagai media cleaning dan dapat membantu dalam proses leaching.

b. *Fase homogen*

Pada fase homogen, setelah terbentuk kavitasi, tekanan akustik kritis dapat mengawali timbulnya ledakan gelembung dan akhirnya diikuti dengan *symetric bubble collapse*. Selama peristiwa ini, gelembung mikro akan mengalami pemanasan adiabatik yang cenderung berumur pendek dimana terjadi titik panas di bagian cairannya. Tergantung pada kondisi khususnya, peningkatan tekanan dan suhu bisa mencapai 200 bar dan 5000 K (Gogate dkk, 2006

### 2.3.3. Ultrasonik dalam reaksi kimia

Hal-hal yang terkait dengan kinetika kimia telah diamati bahwa ultrasonik dapat meningkatkan kereaktifan kimia pada suatu sistem yang secara efektif bertindak sebagai katalis untuk lebih mereaktifkan atom-atom dan molekul dalam sistem. Sebagai tambahan, pada reaksi yang menggunakan bahan padat, ultrasonik dapat memecah padatan dari energi yang ditimbulkan akibat pecahnya kavitasi. Efek yang diberikan adalah memberikan luas permukaan yang lebih besar pada komponen reaktan padat untuk meningkatkan laju reaksi (Suslick, 1994). Menurut



Gogate dkk (2006) berkaitan dengan reaksi kimia, kavitasi dapat mempengaruhi hal berikut :

- a. Mengurangi waktu reaksi. Hal ini disebabkan oleh pada proses kavitasi berlangsung dihasilkan suhu dan tekanan yang sangat ekstrim yang dapat meningkat terjadinya reaksi.
- b. Mengurangi "force" suhu dan tekanan
- c. Meningkatkan selektivitas
- d. Membangkitkan radikal bebas. Adanya proses pembangkitan radikal disebabkan oleh proses kavitasi terjadi pada bagian bulk dari sistem. Sehingga pada saat proses bubble collapse dapat terbentuk atom hidrogen dan radikal hidroksil.

*Halaman Sengaja Dikосongkan*

## **BAB 3**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

Penelitian ini diawali dengan proses pembuatan larutan kitosan. Komposisi larutan kitosan yang digunakan adalah larutan asam asetat p.a 1% volume dengan perbandingan 1:100, berat kitosan (gram) per volume larutan asam asetat (mL). Kemudian dilanjutkan ke proses sonikasi. Setelah proses sonikasi dijalankan sesuai variabel yang diinginkan, dilakukan proses deprotonasi dengan larutan NaOH 1M. Pada proses ini rantai kitosan akan kehilangan atom hidrogen. Sehingga kitosan dengan berat molekul tinggi akan bersifat *insoluble* dalam larutan sedangkan kitosan dengan berat molekul rendah ( $\leq 3900$  Da) akan bersifat *soluble*. Kemudian dilakukan proses pemisahan secara filtrasi antara produk yang terlarut (*soluble*) dan tidak terlarut (*insoluble*). Pada produk yang tidak terlarut, proses dilanjutkan pada penghilangan garam organik ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ) dengan cara dilakukan pencucian (dengan air dan etanol) hingga pH 7 dan selanjutnya dilakukan *freeze drying*. Kemudian, *insoluble* kitosan yang telah kering dilakukan analisa (*Viscometry*, XRD dan FTIR). Pada produk yang terlarut, dilakukan pemekatan larutan dengan *freeze drying* dan dilakukan penambahan etanol pada konsentrat. Padatan yang terbentuk, dilakukan analisa dengan *endpoint analysis* dan Lc-MS. Semua tahapan tersebut, dinamakan stage 1, selanjutnya untuk melanjutkan ke stage 2 dan berikutnya, *insoluble* kitosan pada stage 1 dilarutkan kembali ke dalam asam asetat yang baru dengan komposisi dan proses sonikasi yang sama.

#### **3.1. Bahan Penelitian**

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

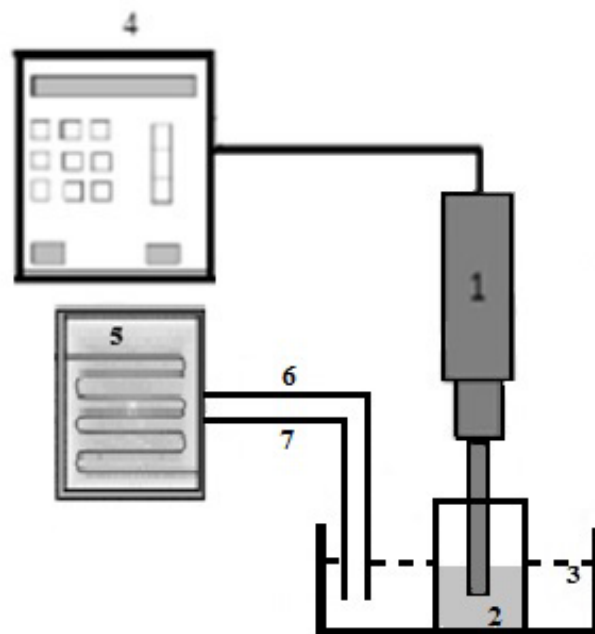
1. Kitosan *powder* dengan  $\text{BM}_{\text{mula-mula}} = 3,7 \times 10^6$  (Biotech Surindo, Cirebon, Indonesia)
2. Asam asetat *glasial*
3. NaOH *p.a*

4. Etanol *p.a*
5. Aquades
6. GAH (*Glukosamine Hydrochloride*)
7. *Potassium Ferrycyanide*
8. *Sodium Carbonat*

### 3.2. Peralatan Penelitian

Peralatan penelitian yang digunakan terdiri dari:

1. Seperangkat peralatan sonikasi Horn
2. *Centrifuge*
3. *Termokopel* dan *data taker*
4. *Freeze drying*
5. Peralatan yang digunakan untuk analisa yang terdiri dari: XRD, FTIR, SEM, Viscometer Ubbelohde, Spektrometer UV-Vis, dan LC-Ms.



Gambar 3.1. Seperangkat peralatan pada proses sonikasi

### Keterangan:

1. Probe ultrasonik, untuk mentransmisikan energy ultrasonic ke dalam sampel.
2. Reaktor sonikasi
3. *Water bath*, untuk menjaga suhu larutan tetap konstan
4. Generator ultrasonik, untuk mengkonversi tegangan listrik menjadi energi ultrasonik. Pada generator ultrasonik dilengkapi setting *timer*, *temperature*, dan *amplitude*.
  - a. *Timer*, untuk mensetting durasi ultrasonik.
  - b. *Temperature*, untuk mencegah overheating sampel.
  - c. *Amplitude control*, untuk mengontrol amplitudo dari vibrasi pada tip
5. Chiler, mensirkulasi air pada *water bath*.
6. Aliran air masuk ke *water bath*
7. Aliran air keluar dari *water bath*

### Spesifikasi :

Alat ultrasonik: high-intensity ultrasonik processor VCX 500 Sonics and Materials Inc, USA (500 W, 20 kHz, 0 -100 % *Amplitudo*) dilengkapi dengan Titanium Alloy probe transducer. Konverter dibuat dari piezoelectric lead zirconate titanate crystals.

### 3.3. Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Pada proses sonikasi variable tetap yang dipakai adalah:
  - Komposisi : 1% (w/v kitosan dalam asam asetat)
  - Konsentrasi asam asetat : 1% v/v air
  - Temperatur : 60°C.
  - Waktu : 120 menit.

Variabel yang dirubah adalah besarnya amplitudo (50, 55, 60 dan 70%) dan jumlah tahapan proses sonikasi. Presentase amplitudo didefinisikan sebagai besarnya nilai yang dikontrol oleh power supply dari alat sonikasi dan menyatakan presentase energi listrik dari generator ultrasonik yang terkonversi sebagai energi vibrasi dari gelombang ultrasonik (Sonic dan Material: 2014). Sedangkan jumlah tahapan sonikasi didefinisikan sebagai

bayaknya tahapan *unsoluble product* untuk dilakukan proses sonikasi kembali.

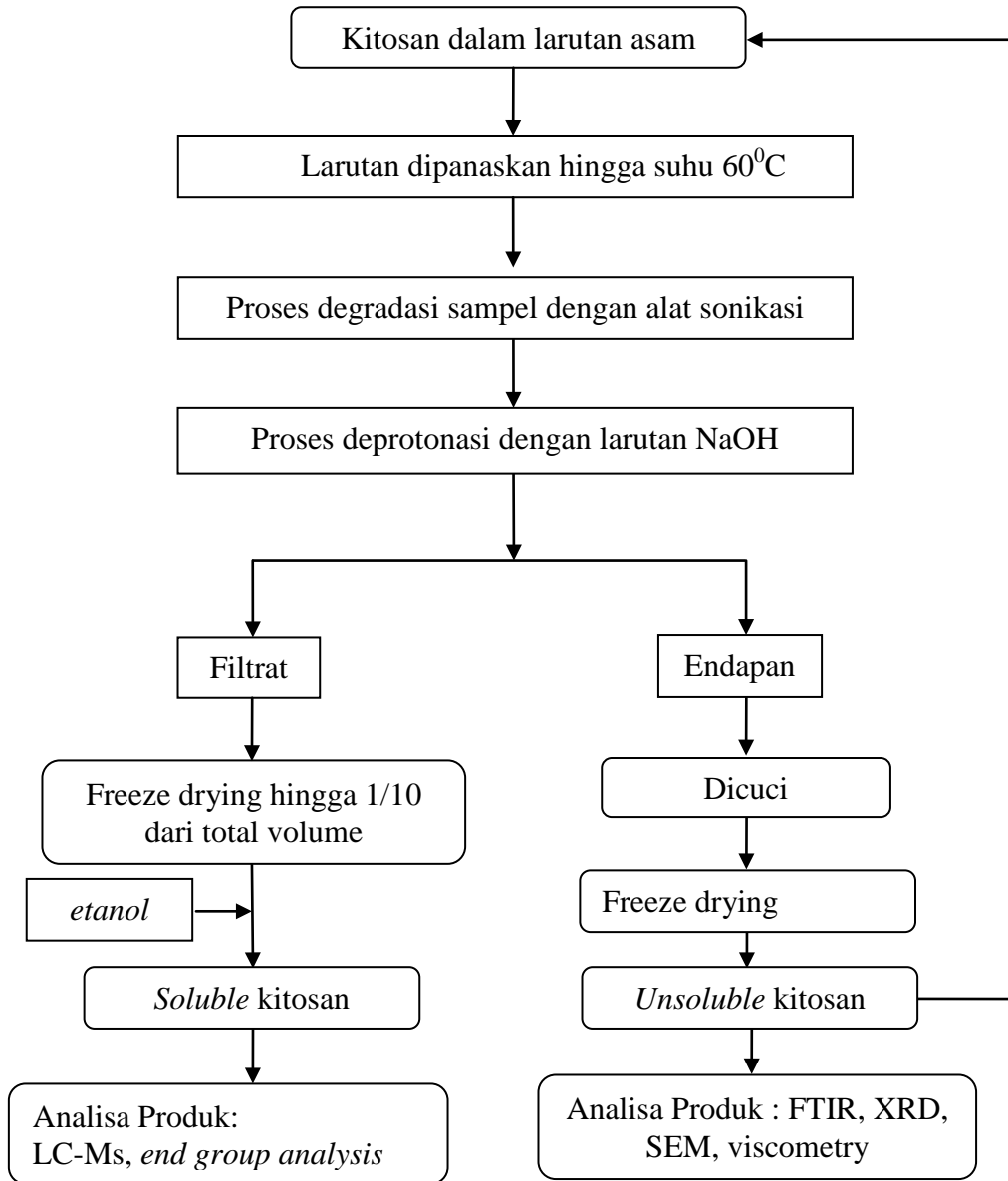
### 3.4. Prosedur Penelitian

#### 3.4.1. Proses Sonikasi

1. Water bath dikontrol suhunya sesuai dengan variabel yaitu 60°C. Reaktor sonikasi ditempatkan sesuai dengan rangkaian.
2. Kitosan sebanyak 1% w/v dilarutkan ke dalam larutan asam asetat 1% v/v air hingga sampel homogen. Kemudian, sampel dipanaskan sampai mencapai suhu 63°C dan dimasukkan ke reaktor.
3. Setelah suhu sampel dan suhu waterbath mencapai suhu yang sama, dilakukan sonikasi dengan frekuensi 20 kHz selama 120 menit dan amplitudo 50%.
4. Setelah proses sonikasi selesai, hasil produk sonikasi didinginkan terlebih dahulu sampai suhu lingkungan ( $\pm 27^{\circ}\text{C}$ ).
5. Dilakukan pengukuran suhu akhir, pH, massa, dan volume sampel hasil sonikasi.
6. Dilakukan penambahan larutan NaOH 1M sampai pH sampel 10. Kemudian dilakukan pemisahan antara endapan (*unsoluble product*) dan filtrat (*soluble product*) dengan ukuran saringan 150 mesh.
7. Endapan dan filtrat yang terbentuk ditimbang dan diproses sebagai berikut:
  - a. Endapan
    - Endapan dicuci dengan aquadest kemudian dilanjutkan dengan pencucian dengan etanol. Proses pencucian dilakukan hingga pH larutan menjadi 7. Kemudian endapan yang terbentuk ditimbang
    - Kandungan air dalam sampel dihilangkan dengan alat *freeze dryer* dan endapan yang terbentuk ditimbang.
    - Dilakukan analisa produk, yang terdiri dari: viscometry, SEM, XRD, FTIR.

- b. Filtrat
- Volume filtrat diukur dan dilakukan pemekatan filtrat dengan *freeze dryer* hingga volume filtrat yang tersisa adalah 10% dari volume total.
  - Hasil dari proses *freeze dryer* ditambahkan etanol hingga pH larutan menjadi 7. Kemudian larutan disentrifugasi dan endapan yang terbentuk dikeringkan dengan *freeze dryer*.
  - Dilakukan pengukuran berat molekul dengan metode *end group analysis* dan Lc-Ms.
8. Kitosan dengan berat molekul medium ( >190kDa ) dilarutkan kembali dengan asam asetat dengan perbandingan 1% w/v.
9. Dilakukan pengulangan pada langkah 1-8 untuk mendapatkan produk *unsoluble* di tahap 2,3, dan selanjutnya hingga didapatkan kitosan dengan berat molekul rendah.

Secara garis besar, tahapan penelitian seperti yang tertera pada Gambar. 3.2.



Gambar. 3.2. Bagan Tahapan Penelitian

### 3.4.2. Energi Kalorimetri ( $P_{cal}$ )

Sebelum dilakukan proses sonikasi terhadap sampel maka dilakukan penentuan power sonikasi dengan cara dilakukan perekaman profil kenaikan suhu (*heating rate*) dengan termokopel yang terhubung dengan data taker di setiap variasi amplitudo (pada generator ultrasonik) selama proses sonikasi berlangsung. Hal ini bertujuan untuk mengestimasi



jumlah energi dari gelombang ultrasonik ( $P_{cal}$ ) yang ditransmisikan ke *bulk liquid* setelah mengalami kavitasi (Mason et al., 1990). Penentuan  $P_{cal}$  ditentukan melalui persamaan:

$$P_{cal} = \text{Joule/sekon} = m \cdot C_p \cdot \Delta T$$

$$P_{cal} = \frac{m \int C_p \cdot \partial T}{\Delta t} = \frac{Q}{t}$$

Dimana:

$m$  = massa air (gram)

$C_p$  = Kapasitas panas spesifik, untuk air 4.19 (J/g.K)

$dT/dt$  = laju kenaikan suhu larutan dari mula-mula

Sedangkan, intensitas dari power ultrasonik yang terdispersi dari probe ultrasonik dengan radius  $r$ , diprediksi dengan menggunakan persamaan berikut:

$$UI = \frac{4P}{\pi D^2}$$

Keterangan:

$UI$  = Ultrasonik Intensity ( $W/cm^2$ )

$P$  = Power Ultrasonik (Watt)

$D$  = Diameter tip (pada penelitian 1.3 cm)

### 3.5. Analisis Produk

#### 1. Penentuan Berat Molekul

Produk yang berupa padatan dari hasil proses sonikasi dilakukan pengukuran berat molekulnya dengan menggunakan metode viskosimetri. Metode viskosimetri dilakukan dengan cara: kitosan (0,1 gram) dilarutkan dalam 100 mL larutan  $CH_3COOH$  1% kemudian dilakukan pengenceran larutan kitosan dengan konsentrasi yang bervariasi. Masing-masing larutan kitosan dimasukkan ke dalam Viscometer Ubelohde (Schott Gerate, Jerman).

dan diukur laju alirnya. Kemudian, berat molekul ditentukan dengan persamaan Mark-Houwink (Rao,1993) :

$$[\eta] = k \cdot M^\alpha$$

Dimana pengukuran pada suhu = 25°C, diperoleh :

$$k = 0,0474 \text{ ml/gr}$$

$$\alpha = 0,723$$

( $\eta$ ) = viskositas intrinsik larutan

Viskositas intrinsik kitosan dalam larutan asam asetat dapat ditentukan dari intercept antara viskositas spesifik ( $\eta_s$ ) terhadap konsentrasi (C) ataupun intercept dari  $\ln(\eta_r$  (viskositas relative)) terhadap konsentrasi (C). Viskositas relatif ditentukan dengan cara:

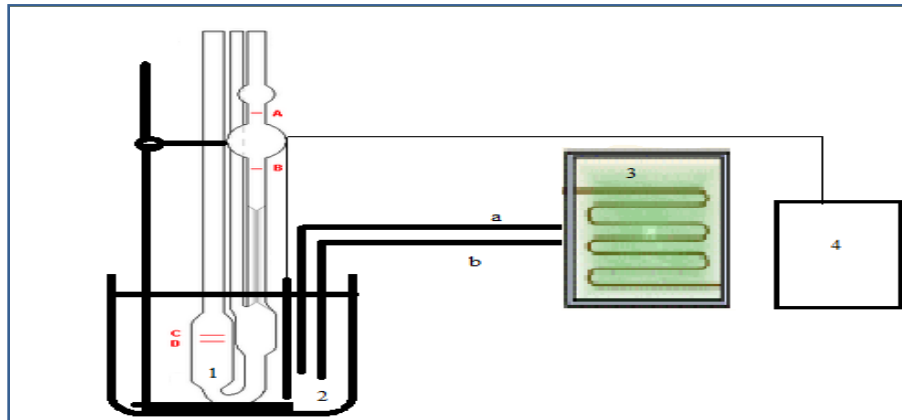
$$\eta_{rel} = \frac{\eta_{sol'n}}{\eta_{solvent}}$$

$$\eta_{rel} = t_{sol'n} / t_{solvent}$$

Sedangkan, viskositas spesifik merupakan perubahan fraksi pada viskositasnya saat ditambahkan polymer, cara penentuannya:

$$\eta_{sp} = \frac{\eta_{sol'n} - \eta_{solvent}}{\eta_{solvent}} = \eta_{rel} - 1$$

Skema rangkaian alat pengukuran viskositas intrinsik seperti yang tertera pada Gambar 3.3.



Gambar. 3.3. Rangkaian alat pengukuran viskositas intrinsik

Keterangan Gambar 3.3:

1. Viscometer
2. Water bath
3. Chiler
- a. Aliran air masuk
- b. Aliran air keluar
4. Thermokopel

Sedangkan ratio penurunan berat molekul ditentukan sebagai berikut (R.H.Chen, 1997):

$$\text{Ratio penurunan } M_v = 1 - M_t/M_0$$

$M_t$  dan  $M_0$  adalah berat kitosan setelah dilakukan setelah dan sebelum sonikasi

## 2. Penentuan Derajat Kristalinitas

Derajat kristalinitas adalah derajat kemungkinan terbentuknya susunan kristalin dalam bentuk rantai (Retno, 2011). Polimer kitosan merupakan jenis polimer semikristalin sehingga ada dua jenis puncak yang terlihat dalam difraktogram hasil XRD, yaitu puncak yang tajam (daerah kristalin) dan puncak yang lebar (daerah amorf). Sehingga, derajat kristalinitas sampel dapat ditentukan dari luasan difraktogram hasil analisa XRD dengan menggunakan persamaan berikut (Retno, 2011):

$$Dk = \frac{A_{kristalin}}{A_{kristalin} + A_{amorf}} \times 100\%$$

Keterangan:

Dk = derajat kristalinitas (%)

$A_{kristalin}$  = luas daerah kristalin ( $cm^2$ )

$A_{amorf}$  = luas daerah amorf ( $cm^2$ )

XRD yang digunakan adalah tipe PANalytical PW 3373/00 X'Pert X-ray diffractometer, Netherland dan menggunakan Cu,  $K\alpha = 1.54$  pada 40 kV-30 mA. Pengukuran derajat kristalinitas dilakukan dengan cara bubuk sampel kitosan ditaburkan pada spesimen *holder* dengan perekat ganda yang kemudian diletakkan pada guaniometer dan dirotasikan pada sudut kalibrasi ( $2\theta$ )  $5^\circ$ - $90^\circ$  selama 15 menit. Kemudian hasil pengukuran XRD yang berupa difraktogram diamati dan dianalisa.

### 3. Penentuan Komponen Produk Hasil Degradasi

Analisa untuk mengetahui komponen – komponen yang terbentuk pada produk yang terlarut dianalisa dengan LC-Ms. Penentuan komponen produk didasarkan pada berat molekulnya. Berikut merupakan komposisi sampel dan spesifikasi alat Lc-Ms:

<b>Sample :</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Volume yang diinjeksikan : 2 <math>\mu</math>L</li> <li>- <i>Flow rate</i> : 0.05 ml/min</li> <li>- Solvent : methanol with 0.3% acetic acid</li> </ul>
<b>Eluent</b> : Methanol
<b>LC-MS : Mariner Biospectrometry</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- LC: Hitachi L 6200</li> <li>- <b>System ESI (Electrospray Ionisation)</b></li> <li>- <b>Positive ion mode</b></li> </ul>
<b>Kolom</b> : C18 (RP 18) Phenomenex
<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Column length</i> : 150 mm</li> <li>- <i>ID</i> : 1 mm, <i>particle</i> : 5<math>\mu</math>m</li> </ul>

#### 4. Penentuan Derajat Deasetilasi Produk Hasil Degradasi

Derajat deasetilasi adalah persentasi gugus asetil yang berhasil dihilangkan selama proses deasetilasi. Penentuan DD dilakukan dengan metode base line yang diusulkan oleh Domszy dan Robert (Khan dkk., 2002). Rumus untuk perhitungan base line adalah:

$$DD = 100 - \left[ \frac{1 - A_{1655}}{A_{3450}} \times \frac{100}{1.33} \right]$$

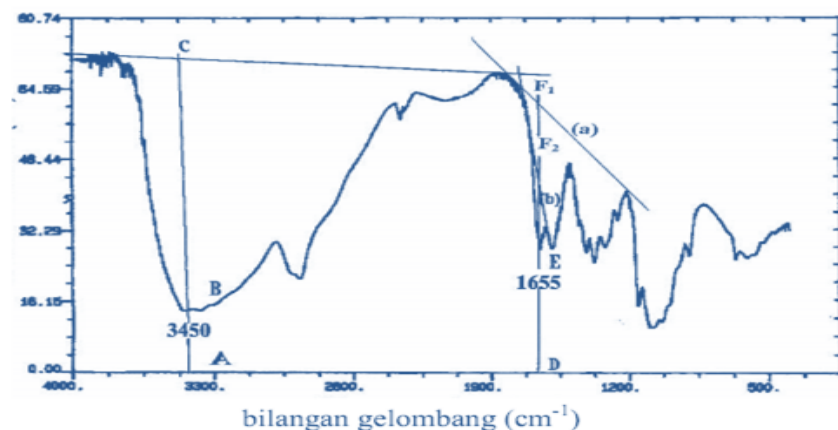
Dengan :

Nilai A (Absorbansi) =  $\log (T_0/T)$

$A_{3450}$  = Absorbansi pada panjang gelombang  $3450 \text{ cm}^{-1}$  untuk serapan serapan hidroksil dan digunakan sebagai standar internal (seperti yang tertera pada Gambar 3.4 ).

$A_{1655}$  = Absorbansi pada panjang gelombang  $1655 \text{ cm}^{-1}$  untuk serapan karbonil dari amida (seperti yang tertera pada Gambar 3.4 ).

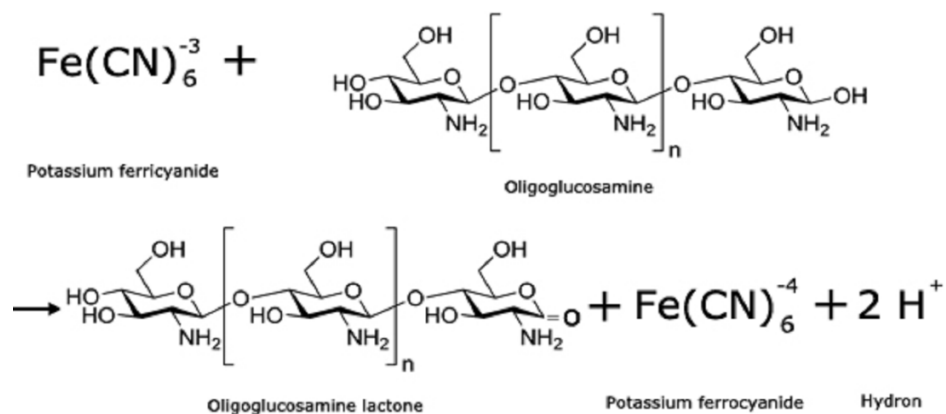
Faktor 1,33 merupakan nilai perbandingan  $\frac{A_{1655}}{A_{3450}}$  untuk kitosan yang terdeasetilasi 100%.



Gambar 3.4. Cara menentukan garis dasar /baseline untuk penentuan derajat deasetilasi (Khan dkk., 2002)

## 5. Pengukuran Berat Molekul Dengan Metode *End Group Analysis*

Metode End Group Analysis digunakan untuk menentukan berat molekul oligoglukosamin yang dinyatakan sebagai *number of molecular weight* ( $M_n$ ) (Shao, 2003). Dasar pengukuran metode *end group analysis* adalah perubahan warna ketika hemiacetal hydroxyl sebagai *reductive sugar* bereaksi dengan *potassium ferricyanide* (berwarna kuning) dan kemudian membentuk *potassium ferrocyanide* (berwarna coklat). GAH (*Glukosamine Hydrochloride*) dan oligoglukosamin memiliki gugus hemiacetal hydroxyl pada molekulnya (Shao, 2003). Sehingga *Number Average Molecular Weight* pada sampel yang mengandung glukosamin ataupun oligoglukosamin dapat terdeteksi. Mekanisme reaksi oligoglukosamin dan *potassium ferricyanide* seperti yang tergambar pada Gambar 3.5.



Gambar 3.5. Mekanisme Reaksi Oligoglucosamine terhadap Potasium ferricyanide

Tahapan metode end group analysis sebagai berikut:

- Proses pembuatan larutan berwarna dilakukan dengan cara 0,75 mg/mL *potassium ferricyanide* dilarutkan ke dalam larutan *dinatrium carbonat* 0,3 mol/L.
- Proses pembuatan larutan standar dilakukan dengan cara konsentrasi larutan D-Glucosamine Hydrochloride (GAH) 10 mg/mL divariasikan menjadi beberapa konsentrasi dengan

- komposisi 4 mL larutan berwarna sedangkan 6 mL berupa variasi larutan GAH yang diencerkan dengan aqua bidestilat.
- c. Masing-masing larutan standar GAH dipanaskan dengan air mendidih pada *water bath* selama 15 menit.
  - d. Dilakukan penentuan absorbansi larutan standar dengan spektrometer UV-VIS pada panjang gelombang 268 nm kemudian dibuat kurva standar hubungan absorbansi dan konsentrasi larutan standar.
  - e. Dilakukan penimbangan massa *soluble* produk (Oligomer Kitosan). Hasil dari pengukuran sebagai persen berat GAH ( $W_1$ ).
  - f. Oligomer Kitosan direaksikan dengan larutan berwarna (4 mL) dan kemudian diukur besar absorbansinya. Hasil pengukuran disubstitusikan ke dalam persamaan kurva standar ( $y = ax+b$ ;  $y$  adalah nilai absorban dan  $x$  adalah jumlah GAH (gram)) untuk memperoleh persen berat oligomer kitosan yang berupa oligoglukosamin ( $W_2$ ).
  - g. Nilai  $W_1$  dan  $W_2$  disubstitusikan ke persamaan berikut untuk mendapatkan nilai berat molekul dari oligomer kitosan:

$$M_n = \left( \frac{W_1}{W_2} \right) \times 215.5$$

*Keterangan:*

$W_1$  = massa *insoluble* produk (gram)

$W_2$  = jumlah oligoglukosamin dari persamaan regresif kurva standar (gram)

215.5 = berat molekul glucosamine (gram/mol)

Sedangkan untuk yield oligoglukosamin ditentukan sebagai berikut:

$$\% \text{ Yield} = \frac{W_a}{W_b} \times 100\%$$

Dimana,

Wa = massa oligomer kitosan (gram)

Wb = massa kitosan mula-mula (gram)



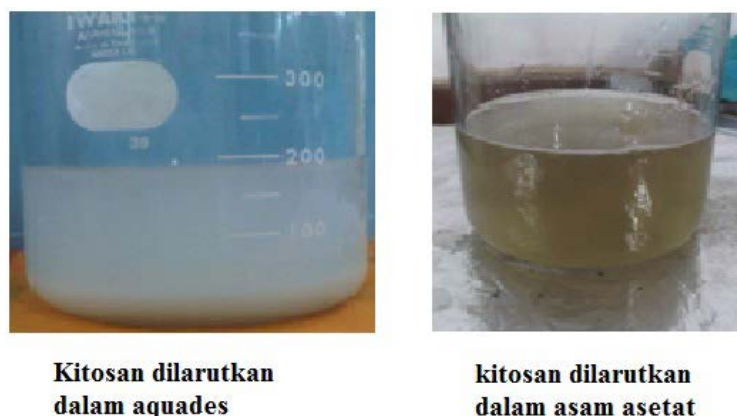
## **BAB 4**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

Pada penelitian ini dilakukan proses degradasi kitosan dengan menggunakan proses sonikasi dan penambahan asam. Variabel yang digunakan pada proses sonikasi adalah penambahan persentase amplitudo sonikasi dan proses sonikasi bertahap. Presentase amplitudo didefinisikan sebagai presentase energi listrik dari *input power* generator ultrasonik yang terkonversi sebagai energi vibrasi dari gelombang ultrasonik (Sonic & Material: 2014). Tujuan dilakukan penambahan presentase amplitudo adalah untuk mempelajari pengaruh presentase amplitudo sonikasi terhadap produk hasil degradasi kitosan. Sedangkan, tujuan dilakukan proses sonikasi bertahap adalah untuk meminimalkan adanya batasan berat molekul dari proses sonikasi sehingga dihasilkan kitosan dengan kategori berat molekul rendah dan yield oligoglukosamin yang meningkat.

Ketika kitosan murni dilakukan proses degradasi dengan menggunakan sonikasi pada suhu 60<sup>0</sup>C selama 2 jam dengan aquades, maka terjadi penurunan berat molekul rata-rata kitosan dari 3700 kDa menjadi 2871 kDa dengan ratio penurunan berat molekul sebesar 22%. Penurunan berat molekul yang tidak signifikan dikarenakan kitosan tidak dapat larut dalam aquades sehingga proses sonikasi terjadi pada fase heterogen. Sistem yang heterogen akan mengakibatkan pertumbuhan *bubble* akan menjadi terganggu. Ketika *bubble* tumbuh dan kemudian berbenturan dengan permukaan padatan, maka *bubble* akan semakin membesar dan bersinggungan dengan permukaan padatan kitosan. Hal ini akan mengakibatkan adanya peristiwa *bubble colapse* dalam bentuk mikrojet *bubble* . *Bubble mikrojet* merupakan *bubble* dengan bentuk *asymetris* yang didalamnya berisi uap air atau gas dan dapat menghasilkan tekanan yang tinggi sehingga mampu merusak di permukaan padatan ( Banks, C.E. dan Compton, 2003) . Oleh karena itu agar dihasilkan produk degradasi kitosan dengan berat molekul rendah maka dipilih proses sonikasi pada kondisi homogen.

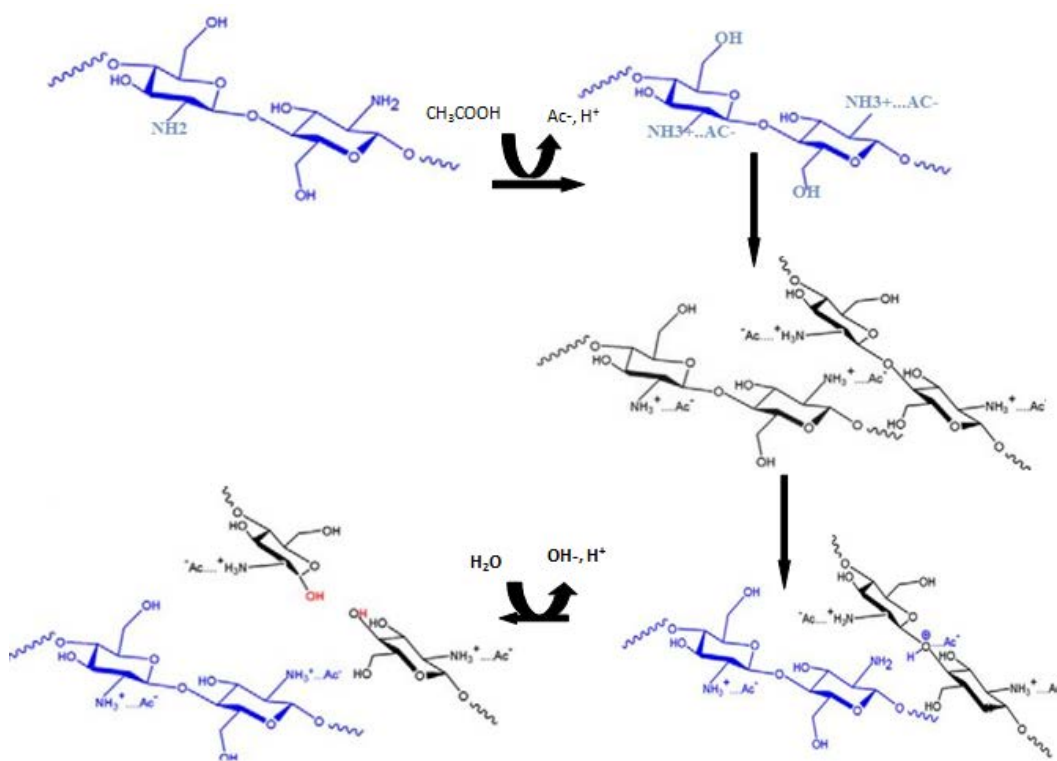
Pada penelitian ini, terlebih dahulu kitosan dilarutkan ke dalam larutan asam. Pada penelitian ini asam yang digunakan adalah asam asetat yang tergolong dalam asam lemah. Tujuan dari penambahan asam asetat adalah untuk meningkatkan kelarutan kitosan dan membantu mempercepat proses depolimerisasi kitosan. Adanya peranan asam asetat dalam proses kelarutan kitosan dibuktikan pada Gambar 4.1. Pada proses pelarutan kitosan, larutan asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), terdiri dari ion  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  dan  $\text{H}^+$ .  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  lebih elektronegatif daripada  $\text{H}^+$  sehingga elemen dengan tingkat elektronegatifan lebih tinggi cenderung menyerang elektron untuk keluar dari lintasannya (Israelachvili: 2011). Elektron  $\text{H}^+$  akan terdorong keluar (terekstisasi) kemudian berinteraksi dengan gugus amina  $-\text{NH}_2$  pada rantai kitosan. Gugus amina terprotonasi menjadi ion  $\text{NH}_3^+$  dan menyebabkan kitosan terlarut dalam asam asetat (Tsao, dkk., 2011).



Gambar 4.1. Kitosan larut dalam larutan asam asetat konsentrasi 1%

Sedangkan peranan asam asetat adalah sebagai pemercepat proses depolimerisasi kitosan (katalis). Hal ini dibuktikan oleh adanya penurunan berat molekul untuk larutan kitosan 1% w/v asam asetat pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$  dan pengadukan 350 rpm selama 2 jam. Berdasarkan hasil pengukuran berat molekul rata-rata, diketahui bahwa berat molekul kitosan berkurang dari 3700 kDa menjadi 1870 kDa. Ratio penurunan berat molekul kitosan hasil degradasi dengan larutan asam meningkat sebesar 49% bila dibandingkan dengan proses depolimerisasi menggunakan sonikasi tanpa bantuan asam (22%). Hal ini dikarenakan pada kondisi pengadukan yang kontinyu dan temperatur reaksi yang tinggi maka akan

terjadi belitan antara amina terprotonasi dengan ikatan glikosidik dan kemudian terjadi protonasi atom glikosidik oksigen seperti pada Gambar 4.2 (Tsao, dkk., 2011). Terjadinya proses protonasi atom glikosidik kitosan dapat menurunkan gaya-gaya intermolekuler (gaya dipol, gaya disperse dan ikatan hidrogen) dan mengurangi ikatan antara molekul-molekul polimer satu sama lain, yaitu dengan cara menyelubungi titik pusat gaya yang menahan rantai polimer bergabung. Hal ini mengurangi titik kontak antara molekul polimer dan merubah polimer menjadi lentur/fleksibel. Dengan berkurangnya gaya antar molekul, menyebabkan gerakan bagian rantai lebih mudah bergerak. Sehingga apabila hasil protonasi oksigen di ikatan glikosidik bereaksi dengan ion  $H^+$  dan  $OH^-$  dari air (terionisasi) maka dapat memutus ikatan glikosidik pada rantai kitosan (Tsao, dkk., 2011).

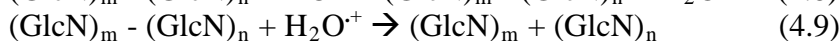
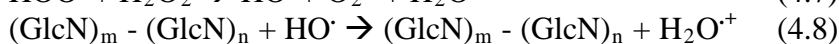
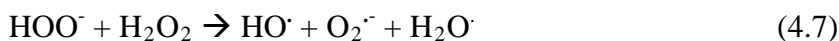
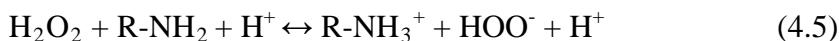


Gambar. 4.2. Reaksi depolimerisasi akibat penambahan asam (Tsao, dkk., 2011).

Proses degradasi dengan menggunakan sistem kombinasi sonikasi dan larutan asam dapat menghasilkan penurunan berat molekul kitosan yang lebih besar daripada proses degradasi dengan menggunakan larutan asam saja. Berat molekul rata-rata kitosan murni turun dari 3700 kDa menjadi 248 kDa dengan

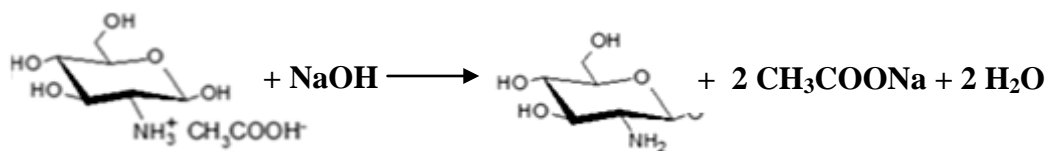
ratio penurunan berat molekul sebesar 93%, setelah dilakukan proses sonikasi pada  $T = 60^{\circ}\text{C}$ ;  $t = 2$  jam; konsentrasi larutan asam asetat =1%. Terjadinya penurunan berat molekul yang lebih besar, diakibatkan oleh adanya kenaikan suhu dan tekanan yang ekstrim dari hasil proses kavitas sehingga dapat memicu proses pembentukan radikal hidroksil dan radikal hidrogen (Thomas,dkk: 2004).

Radikal hidroksil sangat reaktif sehingga sangat mudah untuk membentuk hidrogen peroksida (Thomas,dkk: 2004). Hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) merupakan zat yang lebih asam dibandingkan dengan asam asetat ( $\text{pKa H}_2\text{O}_2$  (11)  $>$   $\text{pKa CH}_3\text{COOH}$  (4.76) ). Sehingga kandungan  $\text{H}^+$  dalam larutan semakin meningkat. Selain itu hidrogen peroksida bersifat sangat mudah terdekomposisi menjadi  $\text{HO}^{\cdot}$  yang dapat menarik atom hidrogen dan bergabung untuk membentuk radikal ion positif air (Jian Shao,dkk: 2003; F.Tian, dkk : 2004). Radikal ion positif air akan lebih cepat terurai menjadi ion hidrogen ( $\text{H}^+$ ) dan radikal  $\text{OH}^{\cdot}$  dalam waktu  $10^{-13}$  detik sehingga mempercepat pemotongan ikatan glikosidik dibandingkan dengan proses degradasi dengan asam saja. Mekanisme reaksi rantai kitosan saat proses sonikasi berlangsung seperti yang tertulis pada persamaan (4.1) sampai (4.9).



Setelah proses degradasi berakhir, larutan ditambahkan dengan larutan NaOH. Penambahan larutan NaOH bertujuan untuk mendeptonasi kembali ion  $\text{NH}_3^+$  menjadi gugus amino  $-\text{NH}_2$ . Adanya gugus amino  $-\text{NH}_2$  yang tidak bermuatan menyebabkan kitosan kembali ke properti semula, yaitu tidak dapat

larut pada kondisi pH basa. Mekanisme reaksi deprotonasi kitosan seperti yang tertera pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3. Mekanisme Reaksi Deprotonasi Kitosan

Setelah penambahan NaOH didapatkan dua jenis produk kitosan, yaitu *unsoluble* produk dan *soluble* produk. *Unsoluble* produk didefinisikan sebagai produk kitosan dengan berat molekul tinggi sampai berat molekul medium dan hanya dapat larut sempurna pada  $\text{pH} < 6$ . Sedangkan, *soluble* produk merupakan produk yang terdiri dari oligomer kitosan ( $< 3900\text{Da}$ ) dan glukosamin yang dapat larut dalam semua kondisi pH .

Selain didapatkan *unsoluble* produk dan *soluble* produk efek penambahan NaOH, juga dapat menghasilkan produk samping yaitu garam sodium acetat  $\text{CH}_3\text{COONa}$ . Pemisahan garam sodium acetat pada produk, dilakukan dengan cara menambahkan etanol (Maniatis dan Sambrook, 1982). Garam sodium asetat akan terdekomposisi menjadi anion karboksilat ( $\text{RC}(=\text{O})\text{O}^-$ ) dan ion logam bermuatan positif ( $\text{Na}^+$ ) yang dapat larut dalam air.

#### 4.1. Pengaruh persentase amplitudo terhadap Sifat Kimia dan Fisika Kitosan

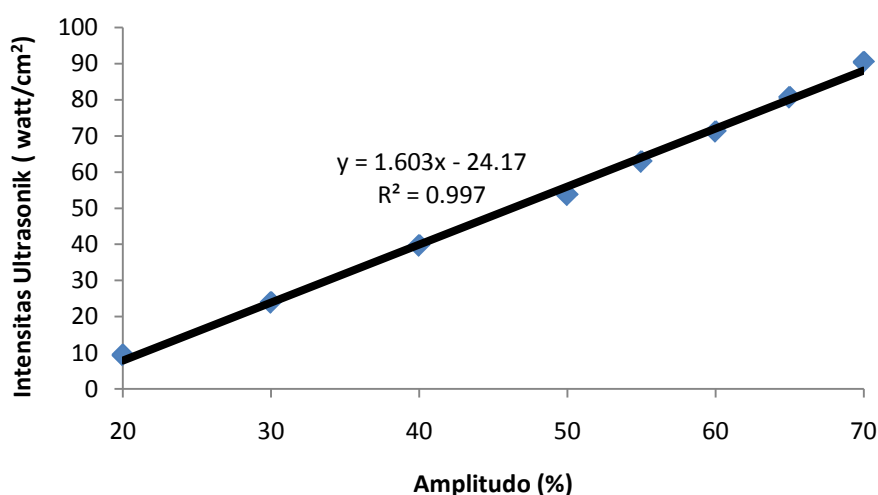
Pada penelitian ini, frekuensi gelombang ultrasonik yang digunakan adalah 20 kHz dengan spesifikasi arus masuk/*input power* dari generator sebesar 500 watt. Diameter tip dari probe sonikasi 1.3 cm dengan set point persen amplitudo 10-100%.

Power yang tertera pada alat generator ultrasonik (500Watt) merupakan kuota yang disediakan oleh pabrik dan bukan merupakan power aktual /*ultrasonic absolute energi* ( $P_{\text{cal}}$ ). Besarnya nilai power aktual sangat ditentukan kondisi operasi. Oleh karena itu perlu dilakukan pengukuran power aktual pada saat percobaan, melalui metode kalorimetri. Metode kalorimetri merupakan metode yang didasarkan oleh besarnya power yang digunakan untuk menghasilkan

*sonochemical reaction* dan kemudian didispersikan dalam bentuk energi panas (Mason et al., 1990).

Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi besarnya power aktual sonikasi adalah besarnya set point persentase amplitudo pada generator ultrasonik. Presentase amplitudo didefinisikan sebagai besarnya nilai yang dikontrol oleh power supply dari alat sonikasi dan menyatakan presentase energi listrik dari generator ultrasonik yang terkonversi sebagai energi vibrasi dari gelombang ultrasonik .

Berdasarkan hasil perekaman profil kenaikan suhu selama proses sonikasi, diketahui bahwa semakin besar amplitudo maka semakin besar suhu akhir sampel setelah proses sonikasi. Hal ini disebabkan oleh semakin besar energi yang digunakan dan kemudian terkonversi sebagai energi (panas) ketika mengalami *sonochemical reaction* (Mason et al., 1990 ; Leigh C. Hagenson dan L. K. Doraiswamy, 1997).



Gambar 4.4. Pengaruh Persetase Amplitudo Generator Ultrasonik terhadap Intensitas Gelombang Ultrasonik

Tabel 4.1. Hasil penentuan *ultrasonic absolute energi* ( $P_{cal}$ ) dan Intensitas ultrasonik (UI) selama proses sonikasi

Amplitudo (%)	<i>ultrasonic absolute energi</i> ( $P_{cal}$ ) (Watt)	Intensitas Ultrasonik ( $W/cm^2$ )
20	12.49	9.41
30	31.75	23.93
40	52.6	39.65
50	71.25	53.71
55	83.36	62.84
60	94.5	71.23
65	106.99	80.64
70	119.97	90.43

Berdasarkan hasil penentuan melalui metode kalorimetri pada Tabel 4.1 dan Gambar 4.4, dapat diketahui bahwa besarnya amplitudo memiliki hubungan linier terhadap *ultrasound intensity* (UI) yang dihasilkan. Intensitas sonikasi merupakan nilai yang menyatakan besarnya power ultrasonik yang terdispersi dari probe ultrasonik dengan radius  $r$ . Semakin tinggi amplitudo maka energi gelombang ultrasonik yang ditransmisikan ke medium cairan ( $P_{cal}$ ) semakin besar. Sehingga besarnya energi tersebut dapat meningkatkan intensitas sonikasi (M.D. Luque de Castro dan F. Priego Capote, 2007).

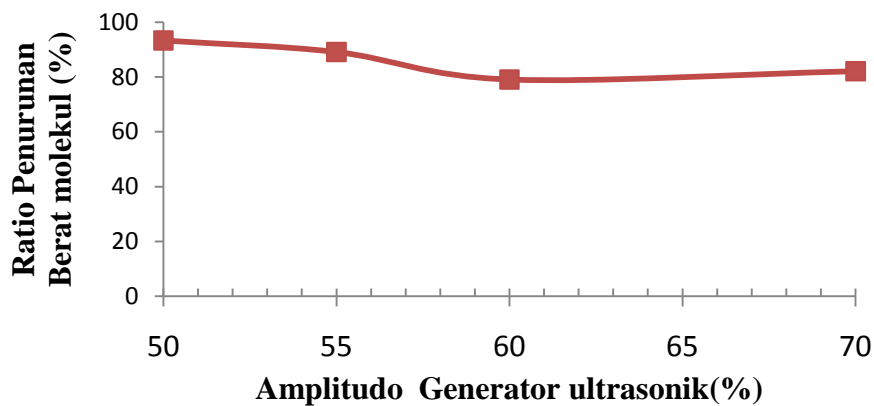
#### 4.1.1. Pengaruh variasi amplitudo terhadap penurunan berat molekul

Pada proses degradasi kitosan, variasi amplitudo yang dipilih adalah >50%. Pemilihan amplitudo 50% didasarkan pada besarnya amplitudo yang telah digunakan oleh para peneliti dan telah terbukti dapat memotong rantai polimer. Selain itu telah diketahui bahwa penggunaan amplitudo yang terlalu rendah (<50%) dapat menghasilkan intensitas sonikasi yang rendah dan dapat mengakibatkan *bubble* tidak dapat bernukleasi. Sehingga, akan menurunkan efisiensi dari proses degradasi (K. Thangavadivel,dkk, 2013).

Tabel 4.2. Pengaruh penambahan amplitudo generator ultrasonik terhadap perubahan berat molekul rata rata (Mv) produk degradasi

amplitudo generator ultrasonik (%)	Mv (kDa)
Kitosan murni (0)	3700
50	248
55	403
60	774
70	662

Pada Tabel 4.2, ampilitudo 50% menghasilkan nilai berat molekul terendah yaitu 248 kDa. Apabila ampilitudo sonikasi ditingkatkan menjadi 55%, 60 % dan 70%, nilai berat molekul kitosan meningkat sebesar 403 kDa, 774 kDa, dan 662 kDa. Berat molekul yang dihasilkan lebih besar dibandingkan dengan nilai berat molekul kitosan pada ampilitudo 50%.



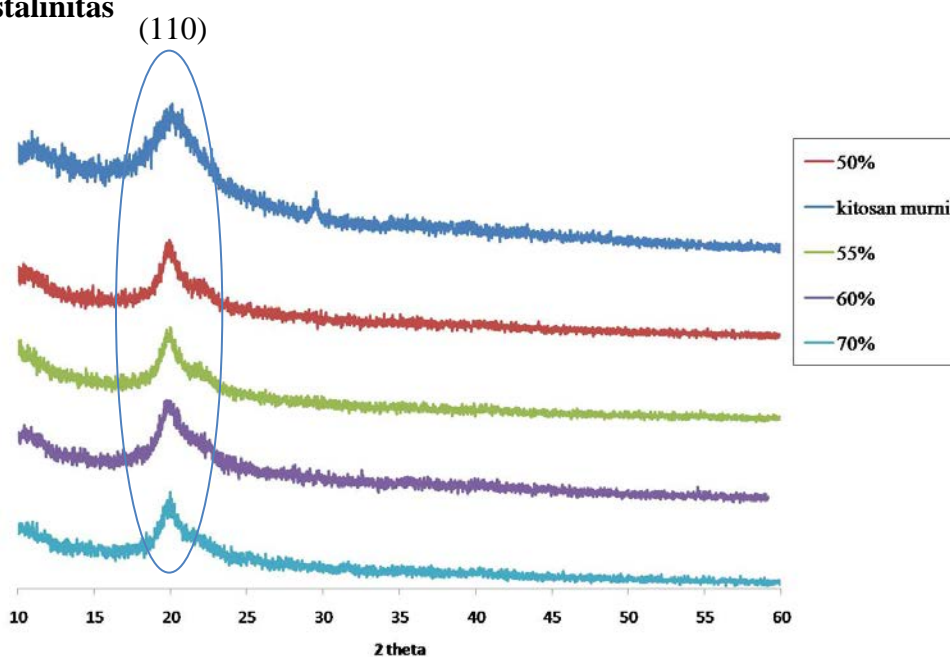
Gambar 4.5. Pengaruh penambahan persentase ampilitudo (%) generator ultrasonik terhadap ratio penurunan berat molekul produk degradasi kitosan

Semakin tinggi ampilitudo generator ultrasonik maka ratio penurunan berat molekul produk degradasi semakin berkurang seperti pada Gambar 4.5. Hal ini dikarenakan nilai ampilitudo generator ultrasonik berbanding lurus terhadap nilai intensitas dari gelombang ultrasonik. Intensitas gelombang ultrasonik yang sangat tinggi akan mengakibatkan turbulensi sebagai akibat besarnya pengadukan (Isabelle, dkk, 2001). Sehingga, adanya turbulensi akan mengacaukan



pertumbuhan *bubble* sehingga proses kavitasi dan proses degradasi rantai polimer terganggu. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Hugo, dkk. Menurut Hugo, dkk amplitudo getaran ultrasonik berbanding lurus terhadap nilai intensitas gelombang dan proses pembentukan radikal melalui proses kavitasi (*sonochemical effect*). Namun apabila telah melewati nilai optimum dari amplitudo generator ultrasonik maka akan terjadi *cavitation threshold*. *Cavitation threshold* merupakan peristiwa dimana proses agitasi lebih dominan daripada proses pembentukan radikal (kavitasi) sehingga mengakibatkan ratio penurunan berat molekul produk degradasi semakin berkurang.

#### 4.1.2. Pengaruh variasi amplitudo generator ultrasonik terhadap nilai derajat kristalinitas



Gambar 4.6. Difratogram XRD dari hasil analisa *unsoluble* produk untuk setiap variasi amplitudo generator ultrasonik

Pada gambar 4.6, puncak difratogram kitosan murni terletak pada  $2\theta = 19.9^\circ$ . Puncak tersebut merupakan karakteristik dari kitosan murni. Secara umum, menurut Chen, dkk, 1997, kitosan memiliki dua bentuk kristal. Bentuk I adalah jenis orthorhombic ( $a = 7.76$ ,  $b = 10.91$ , and  $c = 10.30 \text{ \AA}$  dengan refleksi tertinggi pada  $2\theta = 11.4^\circ$ ). Sedangkan untuk bentuk kristal II merupakan jenis orthorhombic ( $a = 4.4$ ,  $b = 10.0$ , and  $c = 10.3 \text{ \AA}$  ; fiber axis) dengan refleksi tertinggi pada  $2\theta =$

20.1°). Sehingga berdasarkan data tersebut kitosan murni tergolong bentuk kristal ke dua.

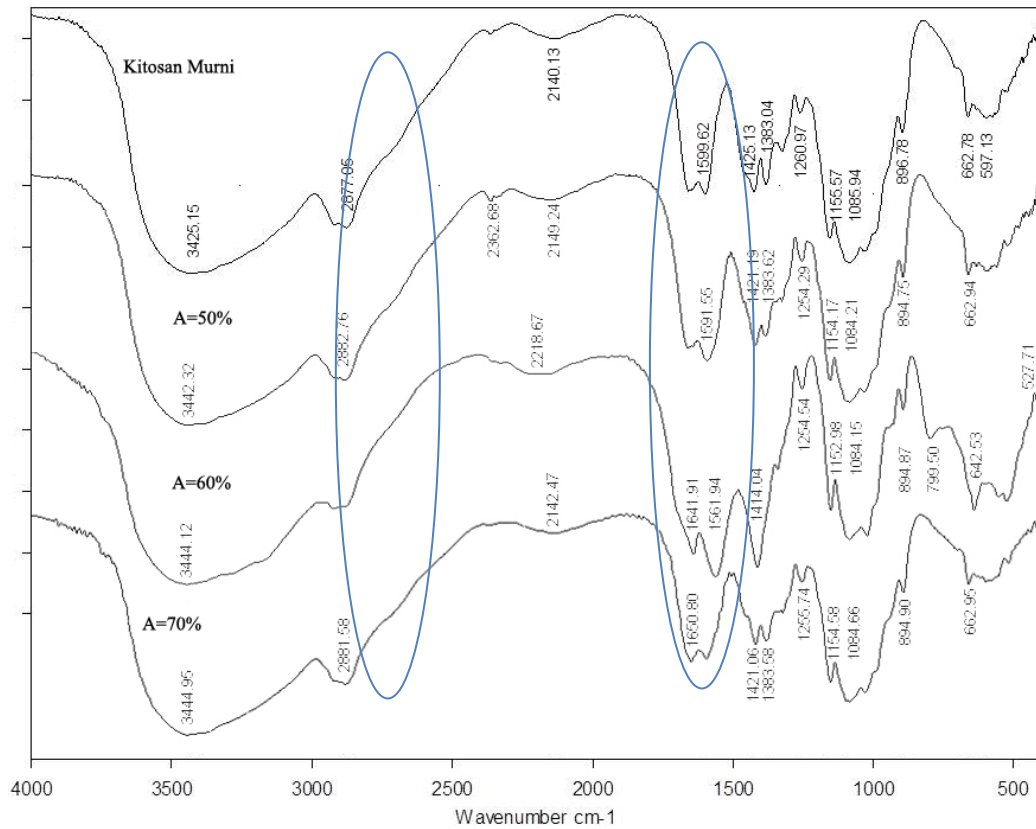
Berdasarkan hasil analisa XRD pada Gambar 4.6, juga dapat diketahui bahwa peak tertinggi untuk kitosan murni terletak pada  $2\theta = 19.93$  dan  $2\theta = 29.51$ . Sedangkan, produk hasil degradasi kitosan pada variasi amplitudo diketahui bahwa level 1 untuk amplitudo 50 % diperoleh tiga puncak  $2\theta = 5.31$ ; 10,45; dan 19.84 namun untuk sampel pada amplitudo 55% puncak  $2\theta = 5.56$ ; 19.95; 22.2 dan amplitudo 60% diperoleh lima puncak  $2\theta = 5.32$ ; 10.64; 19.9; 22.57; 29.68; 40.29. Lima puncak tersebut terdiri dari tiga puncak lama yang merupakan karakteristik dari polimer kitosan sedangkan dua puncak yang lainnya merupakan puncak yang baru. Sedangkan untuk amplitudo 70% hanya ditemukan satu puncak  $2\theta = 19.83$ .

Pada Gambar 4.6, berdasarkan hasil perhitungan terhadap puncak kristalinitas dari difaktogram XRD, diketahui bahwa kitosan murni memiliki persentase derajat kristalinitas 19.5 %. Kemudian derajat kristalinitas kitosan mengalami perubahan setelah dilakukan proses sonikasi. Nilai derajat kristalinitas kitosan pada masing-masing amplitudo adalah sebagai berikut: amplitudo 50 % = 20.21 %; amplitudo 55 % = 20.19 % ; amplitudo 60 % = 21.6 %; dan amplitudo 70 % =20.5 %.

Peningkatan derajat kristalinitas di masing-masing variasi penambahan amplitudo generator ultrasonik diakibatkan oleh berkurangnya intensitas kitosan murni pada peak  $2\theta = 19.9^\circ$  dan  $2\theta = 29.5^\circ$  kemudian timbul peak-peak baru. Hal ini menandakan pada variasi amplitudo yang diikuti oleh proses *freeze-drying* dapat mengakibatkan penyusunan kembali rantai intermolekular dan intramolekular hidrogen di rantai kitosan setelah rantai utama tersebut terputus (E.S.K. Tang dan M. Huang, L.Y. Lim, 2003).

#### **4.1.3. Pengaruh variasi amplitudo terhadap nilai derajat deasitilasi**

Nilai derajat deasitilasi merupakan parameter yang menentukan kuantitas gugus amida pada molekul kitosan setelah mengalami perubahan formasi intermolekul dan intramolekul rantai hidrogen. Nilai derajat deasitilasi ditentukan dari absorpsi gugus amida pada puncak  $\pm 1600 \text{ cm}^{-1}$  (Huafei Xie: 2011).



Gambar 4.7. Spektrum FTIR hasil analisa *unsoluble* produk degradasi untuk sonikasi pada variasi amplitudo generator ultrasonik

Apabila dilakukan analisa terhadap puncak sepektrum FTIR (seperti yang tergambar pada Gambar 4.7), maka diketahui adanya beberapa gugus fungsi pada rantai kitosan sebelum dan setelah mengalami degradasi diantaranya O-H, N-H stretching pada panjang gelombang 3200-3500  $\text{cm}^{-1}$ ; C-H stretching (*half N-acetylated*) pada panjang gelombang 2882-2887  $\text{cm}^{-1}$ ; N-H bending dari  $\text{NH}_2$ ; *Amide I band (weak)* pada panjang gelombang 1600  $\text{cm}^{-1}$ ;  $\text{CH}_2$  bending pada panjang gelombang 1421-1425  $\text{cm}^{-1}$ ;  $\text{CH}_3$  pada *acetyl groups* pada panjang gelombang 1382-1384  $\text{cm}^{-1}$ ; O-H bending pada panjang gelombang 1255-1261  $\text{cm}^{-1}$ ; *Asymmetric bridge oxygen (C-O-C) stretching* pada panjang gelombang 1154-1156  $\text{cm}^{-1}$ ; C-O (-C-O-C-) *stretching asym* pada panjang gelombang 1084-1096  $\text{cm}^{-1}$ ; *Glucose ring stretching* pada panjang gelombang 896  $\text{cm}^{-1}$ .

Pada Gambar 4.7, panjang gelombang  $1600\text{ cm}^{-1}$  merupakan serapan puncak untuk  $-\text{NH}_2$ . Semakin tinggi amplitudo maka semakin rendah puncak transmisi yang dihasilkan. Sehingga, dapat diketahui bahwa gugus amina pada rantai kitosan setelah terdegradasi mengalami penurunan. Sedangkan untuk gugus fungsi yang menggambarkan keberadaan gugus asetat kitosan melalui gugus C-H *stretching (half N-acetylated)* pada panjang gelombang  $2882\text{--}2887\text{ cm}^{-1}$  diketahui bahwa semakin tinggi amplitudo kitosan maka semakin besar persentase transmisinya (Apendik : A-11).

Berdasarkan penentuan nilai derajat deasetilasi, dapat diketahui bahwa besarnya nilai amplitudo tidak berpengaruh signifikan terhadap penurunan nilai derajat deasetilasi. Hal ini dibuktikan dengan derajat deasetilasi kitosan murni sebesar 86.61 berkurang menjadi 86.59 % setelah dilakukan proses sonikasi pada amplitudo 50%. Kemudian berkurang kembali hingga 68.07 % pada amplitudo 55%; 85.62% (amplitudo 60%) dan 80.37 % (amplitudo 70%).

Penurunan derajat deasetilasi disebabkan oleh struktur rantai yang tidak terlalu berubah. Pada rantai kitosan gugus fungsi yang dapat memfasilitasi formasi penyusunan rantai pada bagian intramolekular dan intermolekular rantai hidrogen agar lebih teratur dan kristalin adalah bagian gugus asetat. Sehingga ketika derajat kristalinitas meningkat tidak signifikan maka terjadi penurunan yang tidak signifikan juga dibagian amorf kitosan. Hal ini mengakibatkan jumlah gugus amina yang dituangkan dalam derajat deasetilasi juga berkurang secara tidak signifikan.

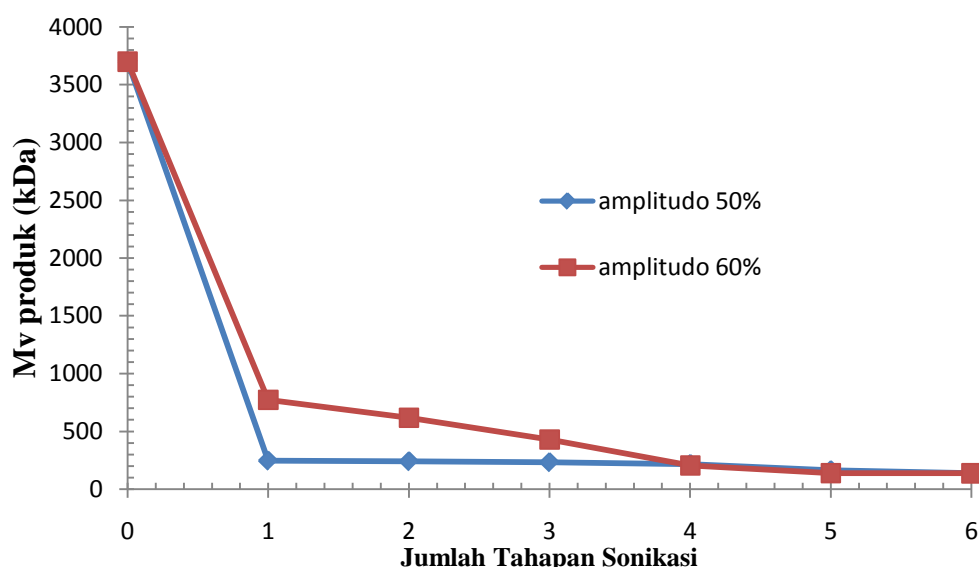
#### **4.2. Pengaruh Sonikasi Bertahap terhadap Sifat Fisika dan Kimia Produk**

Proses sonikasi bertahap didefinisikan sebagai proses sonikasi kembali terhadap *unsoluble* produk yang masih memiliki berat molekul medium sehingga dihasilkan berat molekul rendah. Pada proses sonikasi bertahap kondisi operasi dan komposisi larutan dibuat tetap yaitu pada suhu sonikasi  $60^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam dan konsentrasi larutan asam asetat 1% volume dengan perbandingan 1:100 berat kitosan per volume larutan asam asetat. Amplitudo yang digunakan adalah amplitudo 50% dan amplitudo 60%. Kedua amplitudo tersebut dipilih berdasarkan nilai berat molekul terendah dan tertinggi dari hasil variasi amplitudo.

Pada proses ini, penentuan berat molekul dibedakan menjadi dua cara berdasarkan nilai berat molekulnya, yaitu dengan metode viskometri untuk berat molekul berada di rentang 205-657 kDa (Rao,1993). Sedangkan untuk menentukan berat molekul produk di dalam filtrat/*water soluble* oligoglukosamin didasarkan pada *Number Average Molecular Weight* (Mn) dari metode *end group analysis* (Sun, Tao,dkk 2006).

#### 4.2.1. Pengaruh Sonikasi Bertahap terhadap Unsoluble Produk

##### 4.2.1.1. Pengaruh Sonikasi Bertahap terhadap Perubahan Berat Molekul Produk Degradasi Kitosan



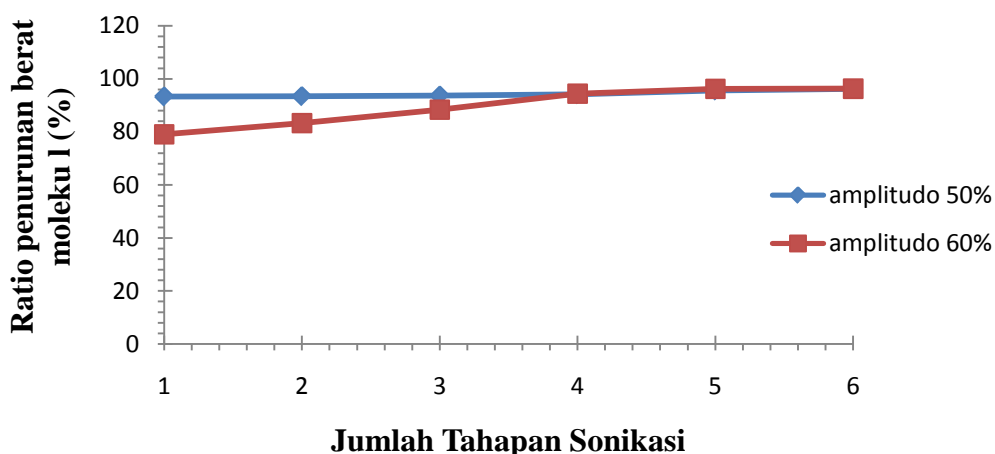
Gambar 4.8. Pengaruh jumlah tahapan sonikasi terhadap penurunan berat molekul rata-rata *unsoluble* produk pada amplitudo 50% dan 60%

Gambar 4.8 merupakan distribusi penurunan berat molekul kitosan pada setiap tahap sonikasi. Pada sonikasi tahap 1 berat molekul kitosan murni berkurang secara cepat dari 3700 kDa menjadi 248 kDa (amplitudo 50%) dan 618 kDa (amplitudo 60%) namun setelah *unsoluble* produk dilakukan sonikasi kembali ke tahap selanjutnya yaitu tahap 2, berat molekul produk dapat turun kembali secara perlahan dengan laju penurunan berat molekul lebih rendah dari semula (tahap 1). Berkurangnya berat molekul kitosan secara cepat di tahap 1 berbanding lurus dengan berkurangnya viskositas intrisik kitosan. Fenomena ini

merupakan karakteristik dari proses degradasi dengan asam asetat. Menurut Shaojie Lu, 2003, asam asetat merupakan asam lemah dan kitosan bersifat tidak stabil dalam asam tersebut sehingga mengakibatkan viskositas larutan turun secara cepat pada awal proses degradasi. Adanya penurunan viskositas dapat mempermudah terbentuknya kavitas, yang dapat mempercepat proses pemutusan rantai.

Selain itu alasan kedua yang dapat mengakibatkan terjadinya penurunan berat molekul secara cepat pada tahap 1 adalah masih tingginya berat molekul awal kitosan. Probabilitas terpotongnya polimer rantai panjang lebih besar daripada polimer dengan rantai pendek (Liu Hui, dkk, 2006). Sehingga penurunan berat molekul pada tahap 1 lebih cepat daripada tahap selanjutnya.

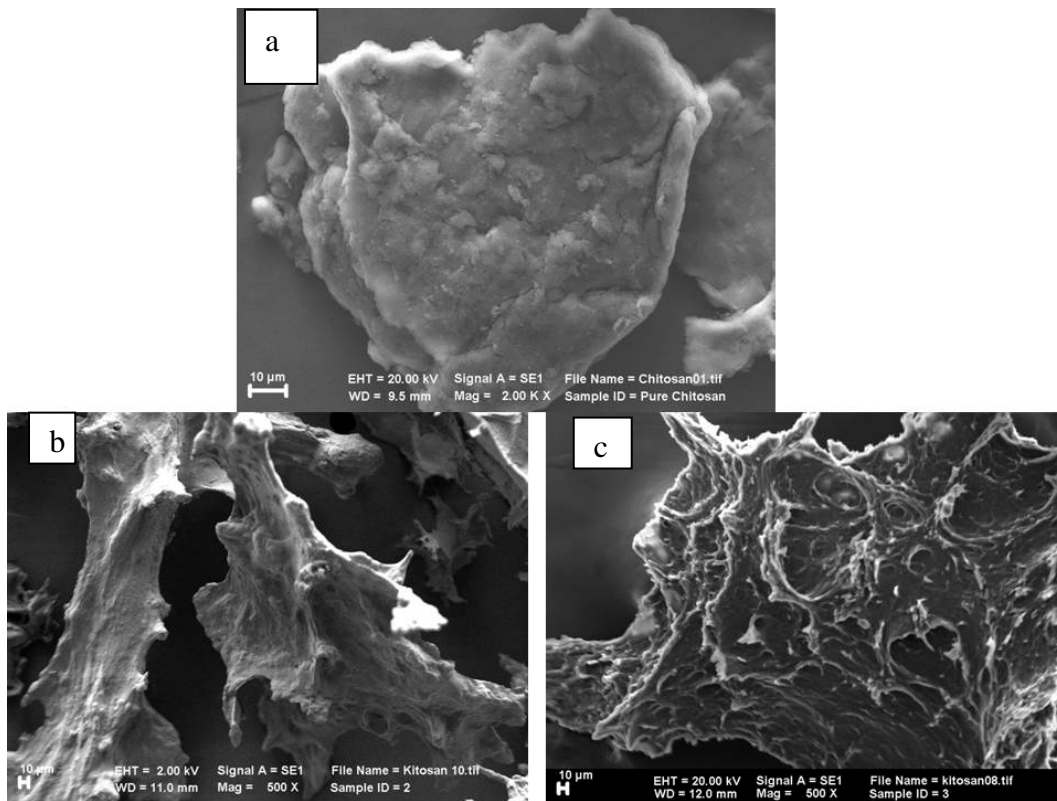
Pada tahap 2 sampai 4 untuk amplitudo 50% dan 60%, berat molekul kitosan adalah 242 kDa (50% Tahap 2), 233 kDa (50% Tahap 3), 216 kDa (50% Tahap 4), 618 kDa (60% Tahap 2), 431 kDa (60% Tahap 3), 206 kDa (60% masih Tahap 4), berat molekul kitosan pada tahap 2-4 belum termasuk katagori *LMWC* (*Low Molecular Weight Chitosan*) . Pada tahap tersebut laju penurunan berat molekul semakin lama semakin berkurang dan akhirnya di tahap 5 sampai tahap 6 terjadi ratio penurunan berat molekul yang menuju konstan 139 kDa (*low molecular weight: 50-190 kDa, Sigma Aldrich, USA*) seperti pada Gambar 4.9.



Gambar. 4.9. Grafik Hubungan Ratio Penurunan Berat Molekul Kitosan terhadap Jumlah Tahapan Sonikasi pada Amplitudo 50% dan 60%

Sehingga dapat disimpulkan bahwa berat molekul 139 kDa merupakan berat molekul optimum (*Limiting Molecular Weight*) pada sistem degradasi 1% w/v kitosan dalam asam untuk  $T = 60^{\circ}\text{C}$ ;  $t = 2$  jam. Hal ini mendukung penelitian yang dilakukan oleh (Gareth J. Price dan Paul F. Smith: 1992; B. A. Buchholz, dkk, 2004; Preston dan Jeffrey, 2004) yang menyebutkan bahwa sistem sonikasi memiliki batasan molekul yang dihasilkan. Adanya berat molekul optimum pada produk degradasi merupakan karakteristik dari proses sonikasi. Hal ini dikarenakan proses pemotongan rantai didominasi pada bagian tengah rantai (Suslick, 1989). Sehingga apabila kondisi optimum telah tercapai, maka tidak akan terjadi degradasi lanjut.

Apabila ditinjau dari segi laju penurunan berat molekulnya, profil laju penurunan berat molekul untuk amplitudo 60% lebih besar daripada amplitudo 50%. Hal ini dikarenakan berat molekul pada tahap 1 untuk amplitudo 60% lebih tinggi daripada amplitudo 50%. Kitosan dengan berat molekul tinggi akan lebih mudah terpotong daripada berat molekul rendah. Selain itu, efek turbulensi yang dihasilkan pada amplitudo 60% bermanfaat pada proses pemanjangan rantai (yang diakibatkan oleh *stretching*) sehingga pada tahap 5 berat molekul kitosan amplitudo 60% memiliki nilai sama (139 kDa) dengan berat molekul kitosan amplitudo 50% tahap 6.

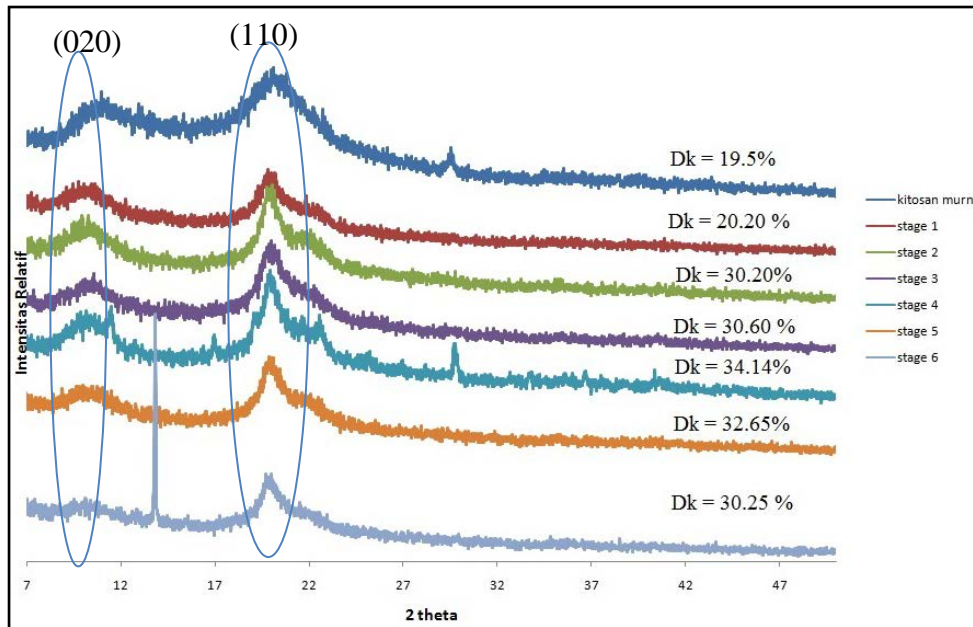


Gambar 4.10. Bentuk morfologi struktur *insoluble* produk hasil analisa SEM pada : a. kitosan murni; b. amplitudo 50% tahap 3; c. amplitudo 60% tahap 3

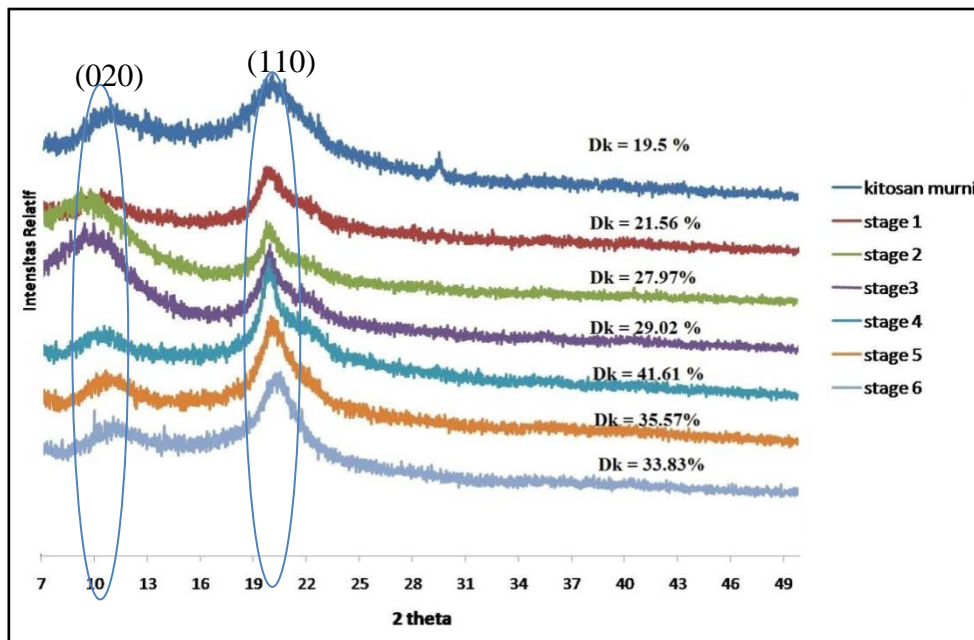
Adanya efek turbulensi pada saat dilakukan penambahan amplitudo sesuai dengan yang diusulkan oleh Isabelle, dkk pada tahun 2001. Efek ini dapat terlihat dari hasil pengujian SEM pada Gambar 4.10. Pada gambar tersebut struktur kitosan murni lebih padat. Kemudian setelah dilakukan sonikasi terlihat adanya robekan dibagian ujung struktur kitosan. Robekan tersebut terjadi baik pada amplitudo 50% dan amplitudo 60%. Namun pada amplitudo 60% permukaannya lebih tidak teratur dan terdapat pola berbentuk lingkaran yang menyerupai aliran turbulen.



#### 4.2.1.2. Pengaruh Proses Sonikasi Bertahap Terhadap Derajat Kristalinitas Produk Degradasi Kitosan

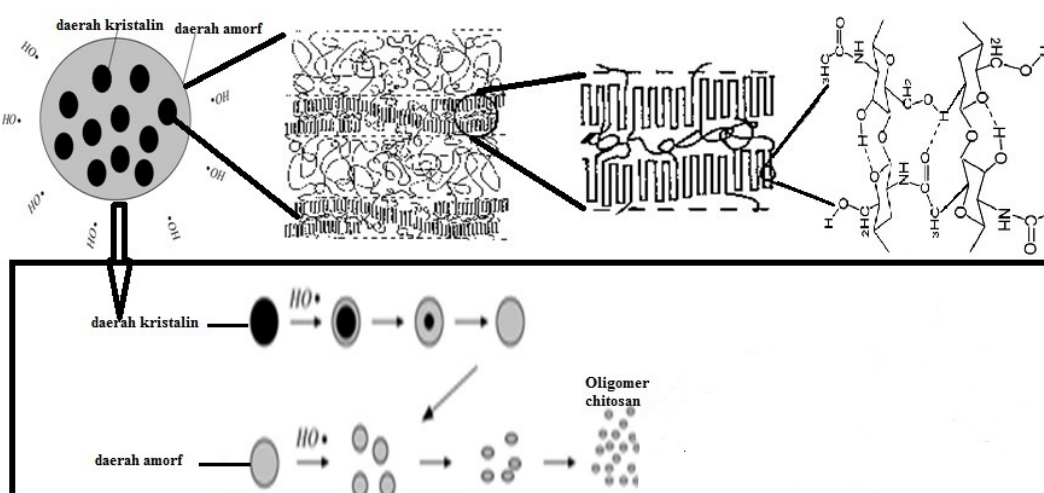


Gambar 4.11. Difratogram hasil analisa xrd pada *insoluble* produk untuk setiap tahapan sonikasi pada amplitudo 50%



Gambar 4.12. Difratogram hasil analisa xrd pada *insoluble* produk untuk setiap tahapan sonikasi pada amplitudo 60%

Pada Gambar 4.11 dan Gambar 4.12 terlihat bahwa adanya perubahan puncak hasil difatogram XRD disetiap tahapan sonikasi. Pada kitosan murni terdeteksi adanya puncak  $2\theta = 19.9^\circ$  (kristal orthrombik) dan kristal  $2\theta = 29.9^\circ$ . Kemudian setelah kitosan murni dilakukan proses degradasi sonikasi bertahap dengan larutan asam, maka secara umum terjadi perubahan pada puncak  $2\theta = 19.9^\circ$  dan adanya peak-peak baru, salah satunya adanya puncak  $2\theta = 10^\circ$ . Puncak pada  $2\theta = 10^\circ$  merupakan kristal hidrat polymorph dari kitosan (020) dan mengindikasikan keberadaan dari distribusi *block* N-acetyl glucosamine dalam rantai molekular kitosan (Kozo Ogawa dan Toshifumi Yui, 2014). Adanya beberapa peak baru dan *block* N-acetyl glucosamine dapat meningkatkan derajat kristalinitas kitosan.



Gambr 4.13. Ilustrasi proses pemotongan rantai kitosan pada daerah amorf (Feng,dkk ,2004)

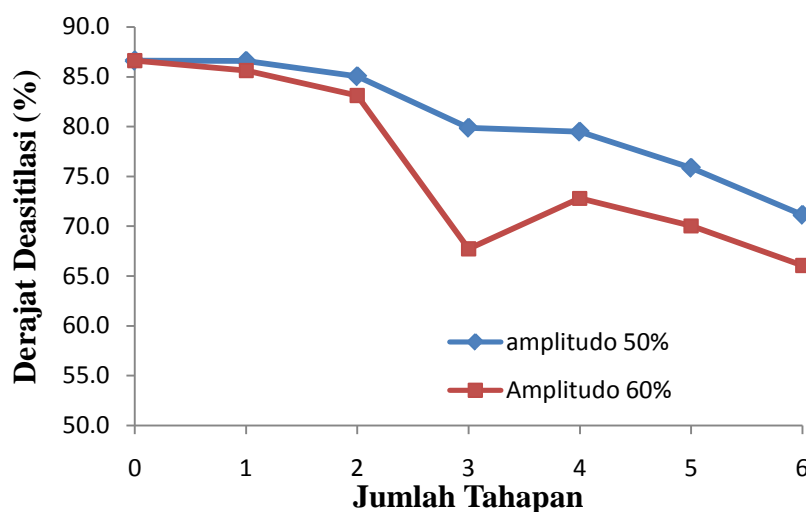
Peningkatan derajat kristalinitas juga dapat disebabkan oleh proses pemutusan rantai selama proses sonikasi yang memicu terbentuknya dipole-dipole dari rantai yang belum memiliki pasangan. Sehingga, terbentuk dua bagian yaitu Nukleofil (kaya elektron) dan Elektrofilik (kekurangan elektron). rantai yang memiliki perbedaan dipole akan tarik-menarik dan akhirnya struktur rantai tersusun lebih teratur dan menjadi lebih kristalin.

Struktur rantai yang mengarah ke daerah kristalin pada proses sonikasi bertahap, diakibatkan oleh proses pemutusan rantai yang dilakukan secara bertahap dengan karakteristik bagian amorf dari rantai kitosan lebih mudah

terputus daripada bagian kristalin seperti ilustrasi pada Gambar 4.13. Sehingga, semakin banyak jumlah tahapan sonikasi maka semakin banyak monomer D-glukosamin berkurang dari rantai kitosan dan menyisahkan monomer N-asetilglukosamin yang bersifat kristalin, hal ini dibuktikan juga dengan menurunnya derajat deasetilasi kitosan (Feng, dkk, 2004).

Peningkatan derajat kristalinitas pada rantai kitosan juga dapat mengakibatkan semakin sulit rantai kitosan untuk terpotong ketika jumlah energi yang diberikan sama. Hal ini dapat membuktikan bahwa proses sonikasi memiliki peranan di dalam penyusunan kembali rantai kitosan dan dapat mengakibatkan timbulnya batasan berat molekul di dalam aplikasinya.

#### 4.2.1.3. Pengaruh Proses Sonikasi Bertahap Terhadap Derajat Deasetilasi Produk Degradasi Kitosan

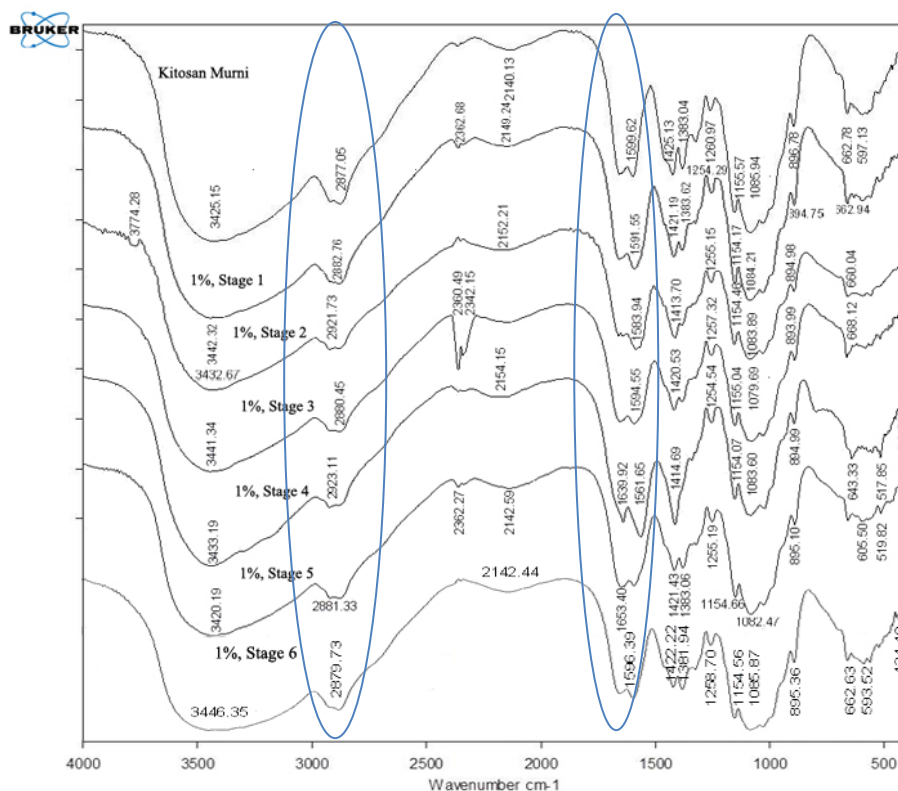


Gambar 4.14. Pengaruh jumlah tahapan sonikasi terhadap penurunan derajat deasetilasi *insoluble* produk pada amplitudo generator ultrasonik 50% dan 60%

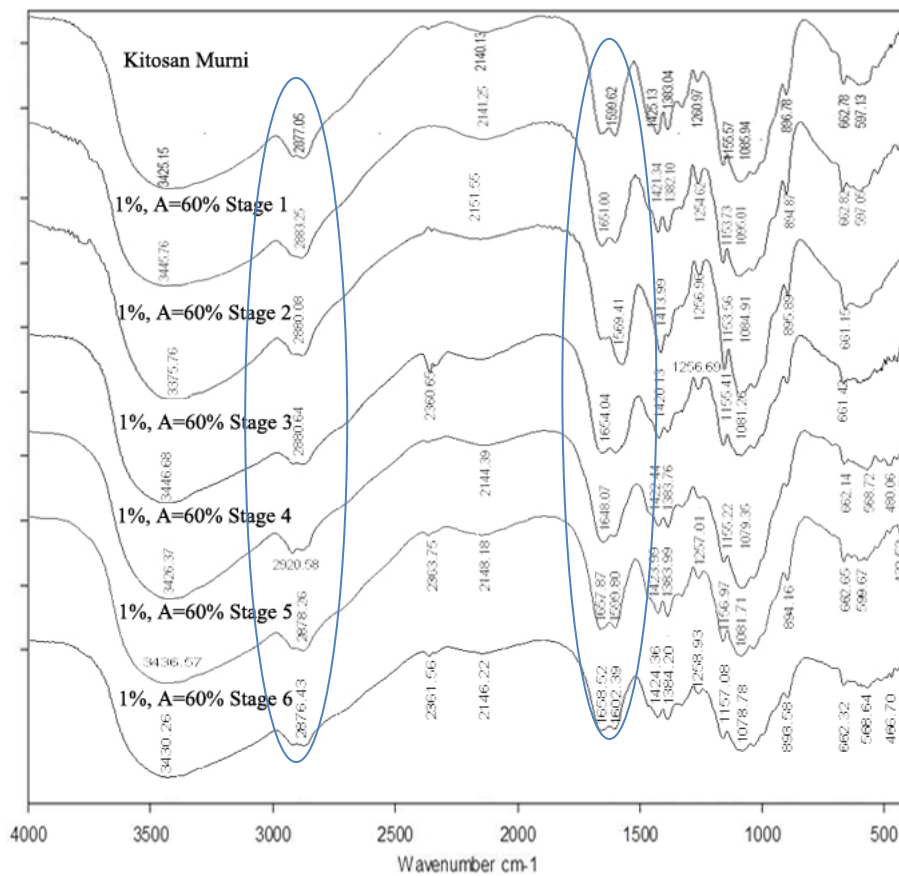
Kitosan tersusun dari monomer N-asetilglukosamin (GlcNAc) dan monomer Glukosamin (GlcN) yang dipisahkan dengan atom oksigen. Keelektronegatifan atom oksigen lebih tinggi dibandingkan atom karbon ataupun hidrogen. Sehingga ikatan  $\beta$ -1,4-glukosidik lebih lemah dan lebih mudah diserang oleh radikal (Min Larng Tsaih dan Rong Huei Chen: 2003). Ketika dilakukan proses degradasi kitosan dengan menggunakan asam maka gugus amin pada C-2

kitosan mengalami protonasi dan bagian tersebut merupakan bagian lebih mudah terputus dari ikatan glikosidik. Sedangkan, pada saat yang sama gugus asetil lebih lambat untuk berikatan dengan radikal (Fang Feng, dkk, 2012). Hal ini mengakibatkan banyak gugus N-asetilglukosamin (GlcNAc) yang masih berada di rantai kitosan dengan berat molekul tinggi (*insoluble* produk). Adanya gugus N-asetilglukosamin (GlcNAc) dibuktikan dengan nilai derajat deasetilasi yang mengalami penurunan untuk setiap tahapannya, seperti yang tergambar pada Gambar 4.14.

Penurunan derajat deasetilasi pada setiap tahap sonikasi juga ditandai oleh peningkatan derajat kristalinitas. Pada DD yang lebih rendah, menunjukkan bahwa lebih banyak gugus *acetyl* daripada gugus amin pada posisi C2 dari glucosamine. Keberadaan gugus *acetyl* yang lebih dominan dapat memfasilitasi terjadinya penyusunan dari intermolekular dan intramolekular rantai hidrogen sehingga rantai kitosan tersusun lebih teratur dan lebih kristalin (Jenq Sheng Chang, dkk, 2007).



Gambar. 4.15. Spektrum FTIR dari produk degradasi kitosan hasil sonikasi bertahap pada amplitudo generator ultrasonik 50%



Gambar. 4.16. Spektrum FTIR dari produk degradasi kitosan hasil sonikasi bertahap pada amplitudo generator ultrasonik 60%

Penurunan derajat deasetilasi pada setiap tahapan sonikasi juga dapat mempengaruhi perubahan komposisi dan distribusi dari gugus *N-acetylated* dan gugus amin kitosan. Pada Gambar 4.15 dan Gambar 4.16 untuk gugus fungsi C-H stretching (*half N-acetylated*) dan CH<sub>3</sub> pada *acetyl groups* menunjukkan bahwa semakin besar jumlah tahapan sonikasi maka semakin besar persen transmittan gelombang. Selain itu, untuk gugus N-H bending dari NH<sub>2</sub> menunjukkan hubungan berterbalikan dengan gugus fungsi C-H stretching yaitu semakin besar jumlah tahapan sonikasi maka persen transmittan dari gugus tersebut semakin rendah. Hal ini menandakan bahwa jumlah gugus amin pada rantai kitosan mengalami penurunan sedangkan untuk gugus asetil pada kitosan semakin bertambah dengan bertambahnya jumlah tahapan sonikasi.

#### 4.2.2. Pengaruh Proses Sonikasi Bertahap terhadap *Number Average Molecular Weight (Mn) Soluble Produk Degradasi Kitosan*

*Metode end group analysis* merupakan metode yang digunakan untuk menentukan number average molecular weight (Mn) dari *soluble* produk. Dasar dari metode ini adalah perubahan warna yang terjadi dari sebuah reagen berwarna ketika mengalami oksidasi. Pada struktur gula tereduksi, bentuk hemiacetal hydroxyl dapat menghasilkan warna ketika bereaksi dengan potosium ferricyanide melalui pembentukan potassium ferrocyanide. GAH (glucosamine hydrochloride) dan oligoglucosamine memiliki hemiacetal hydroxyl di dalam molekulnya. Sehingga, persamaan regresi dari larutan standar yang dibuat adalah  $A = 379.1W + 0.575$ , dimana A adalah nilai absorban dan W adalah jumlah GAH (gram) dengan koefisien regresi adalah 0.999.

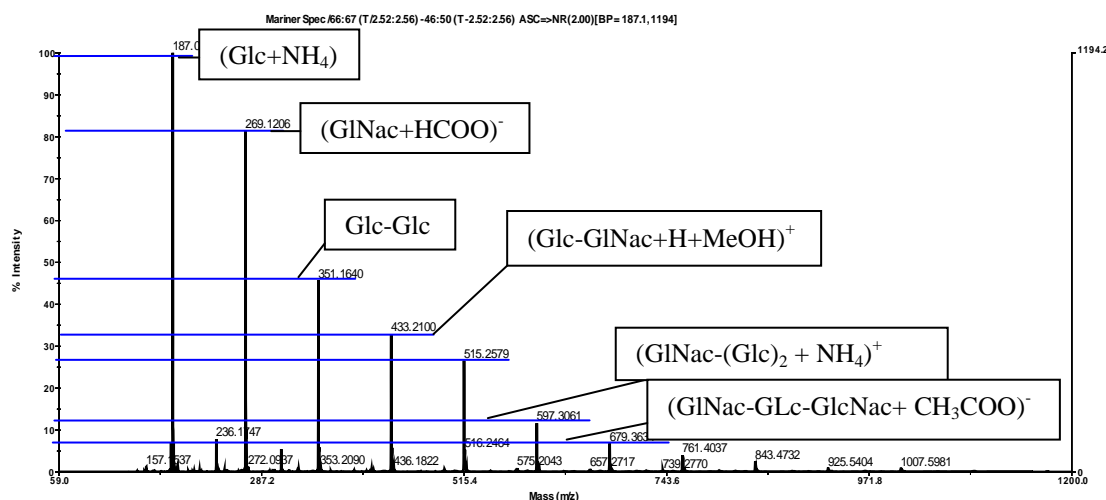
Tabel 4.3. Hasil analisa *metode end group analysis* pada proses sonikasi bertahap untuk amplitudo generator ultrasonik 50% dan 60%

sampel	Amplitudo 60%			Amplitudo 50%		
	BM	DP	Yield(%)	BM	DP	Yield(%)
stge 1	424.342	2	0.4247	250.81	1	0.247
stge 2	409.434	2	0.4498	350.13	1	4.183
stge 3	388.719	2	2.063	358.859	2	4.24
stge 4	570.845	3	2.847	205.556	1	4.369
stge 5	288.528	1	3.879	179.05	1	0.327

Berdasarkan hasil analisa dari end gugus analisis pada soluble produk, diketahui bahwa number average molecular weight (Mn) dari oligoglucosamine berada direntang 179-260 kDa (untuk amplitudo 50%) dan 288-570 kDa (untuk amplitudo 60%) seperti yang tertera pada Tabel 4.3. Karena diketahui bahwa berat molekul glukosamin 179 gram/mol, maka dapat diketahui bahwa unit pengulangan (DP) oligoglucosamin pada soluble produk adalah 1-2 (untuk amplitudo 50%) dan 1-3 (untuk amplitudo 60%).

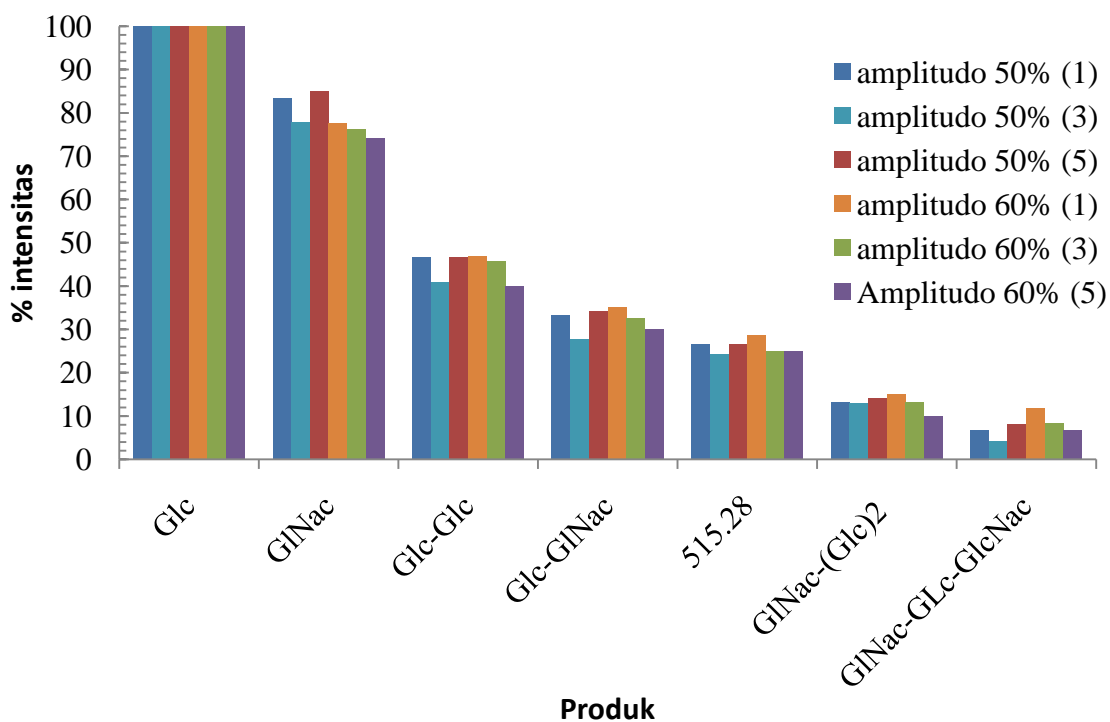
Keterbatasan dari metode *end group analysis* adalah metode tersebut hanya dapat digunakan untuk mengidentifikasi produk glukosamin. Oleh karena

itu, untuk menganalisa komponen lain seperti N-acetylglukosamin pada produk hasil degradasi maka dilakukan tambahan analisa dengan menggunakan Lc/Ms.



Gambar 4.17. Spektrum LC-Ms hasil analisa *soluble* produk pada amplitudo generator ultrasonik 50% tahap 1

Berdasarkan hasil analisa Lc/Ms pada Gambar 4.17, diketahui bahwa distribusi produk yang terbentuk setelah sonikasi cenderung sama disetiap variasinya, yang terdiri dari Glc (DP=1); Glnac (DP=1); Glc-Glnac (DP=2); Glc-Glc (DP=2); Glnac-(Glc)<sub>2</sub> (DP=3) dan Glnac-Glc-Glnac (DP=3). Pada produk tersebut, komponen-komponen pada *soluble* produk masih bergabung dengan *pseudomolecular ions*. *Pseudomolecular ions* adalah ion yang dibentuk oleh eluent saat terjadi interaksi dengan ion larutan (sampel) yang kemudian ikut mengalami ionisasi saat memasuki sistem ESI (*Electrospray*) (E. Savitri, dkk, 2014). Pada saat pengukuran eluent yang digunakan adalah methanol dan pelarut yang digunakan adalah metanol dengan ditambahkan 0.3% asam asetat. Sehingga *pseudomolecular ions* yang terbentuk adalah  $(M+NH_4)^+$ ;  $(M+HCOO)^-$ ;  $(M+H+MeOH)$  dan  $(M+CH_3COO)^-$ . Adanya *pseudomolecular ion* terbaca pada peak analisa Lc/Ms untuk hasil analisa amplitudo 50% untuk tahap 1 dan tahap 5 serta amplitudo 60% untuk tahap 3 dan tahap 5 (Apendik A).



Gambar 4.18. Distribusi *soluble* produk hasil analisa Lc/Ms pada proses sonikasi bertahap pada amplitudo generator ultrasonik 50% dan 60%

Berdasarkan presentase intensitas pada Apendik A maka dapat diketahui distribusi produk untuk soluble, seperti pada Gambar 4.18 dan diketahui bahwa intensitas peak dari monomer glukosamin (Glc) lebih tinggi daripada monomer N-acetylglukosamin (GINac). Kemudian komponen selanjutnya disusul dengan dimer (Glc-Glc; Glc-GINac) dan trimer (GINac-(Glc)<sub>2</sub>; GINac-Glc-GINac) Sedangkan untuk komponen dimer GINac-GINac tidak ditemukan dalam soluble produk. Sehingga berdasarkan komposisi produk untuk soluble produk dari hasil analisa Lc/Ms dan analisa lainnya seperti %DK dan %DD dapat diketahui bahwa proses sonikasi untuk proses degradasi kitosan lebih mengarah pada pemotongan rantai yang mengandung glukosamin. Hal ini dikarenakan pada rantai kitosan, energi hidrasi dari rantai glikosidik memiliki urutan sebagai berikut: GlcNac-GlcNac (0.85 kcal/mol) > GlcN-GlcNac (0.75-0.76 kcal/mol) ≈ GlcNac-GlcN (0.74-0.75 kcal/mol) > GlcN-GlcN (0.65-0.67 kcal/mol). Sehingga berdasarkan besarnya nilai energi hidrasinya maka urutan pemutusan rantai glikosidik sebagai berikut GlcN-GlcN > GlcNac-GlcN ≈ GlcN-GlcNac > GlcNac-GlcNac (Hui Liu, dkk: 2006).



### 4.2.3. Kondisi Terbaik Proses Degradasi Kombinasi Sonikasi Bertahap

Tabel 4.4. Perubahan sifat produk setelah dilakukan proses sonikasi bertahap untuk amplitudo generator ultrasonik 50% dan 60%

Variabel	Mv (kDa)	Mn (Da)	DD (%)	DK (%)	% yield <i>Unsoluble</i> produk (%)	% yield oligoglukosamin (%)
kitosan murni	3700 <sup>(h)</sup>	0	86.6	19.5	0.00	0.00
amp 50% (1)	248 <sup>(m)</sup>	250.81	86.59	20.20	45.32	0.25
amp 50% (2)	242 <sup>(m)</sup>	350.13	85.06	30.20	39.28	4.18
amp 50% (3)	233 <sup>(m)</sup>	358.86	79.87	30.60	33.27	4.24
amp 50% (4)	216 <sup>(m)</sup>	205.56	79.49	34.14	32.88	4.37
amp 50% (5)	164 <sup>(l)</sup>	179.05	75.87	32.65	29.02	0.33
amp 60% (1)	774 <sup>(h)</sup>	424.34	85.62	21.56	40.7	0.42
amp 60% (2)	618 <sup>(h)</sup>	409.43	83.11	27.97	33.69	0.45
amp 60% (3)	431 <sup>(h)</sup>	388.72	67.73	29.02	34.05	4.23
amp 60% (4)	206 <sup>(m)</sup>	570.84	72.82	41.61	30.02	4.27
amp 60% (5)	139.49 <sup>(l)</sup>	288.53	70.06	35.57	19.07	5.56

Keterangan:

- h : High Molecular Weight Chitosan: (> 310 kDa)
- m : Medium Molecular Weight Chitosan: (190 – 310 kDa)
- l : Low Molecular Weight Chitosan: (50 -190 kDa)

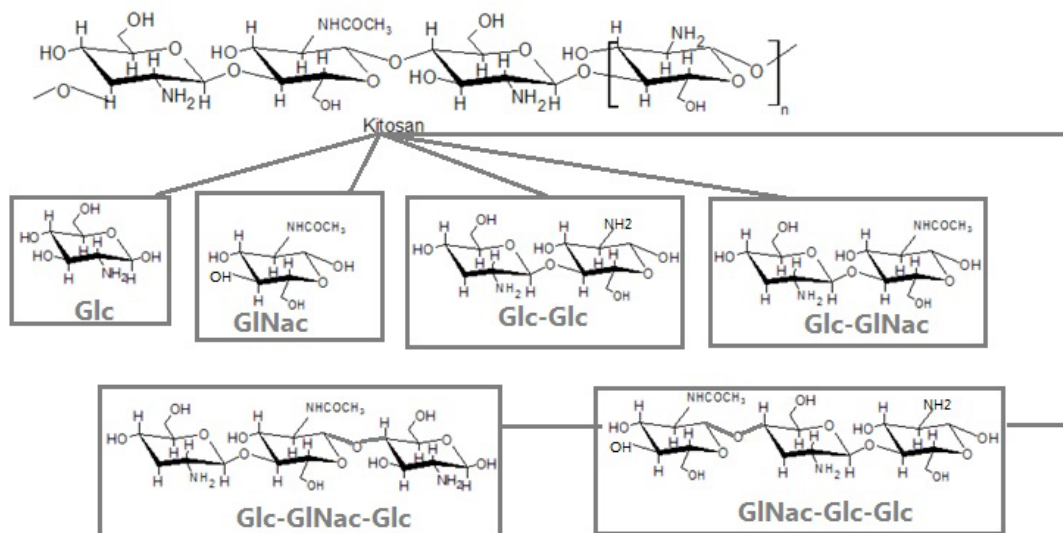
Pada penelitian ini parameter yang dibuat tetap adalah kondisi operasi sonikasi (T= 60<sup>0</sup>C; t=2 jam; komposisi 1% berat kitosan/volume asam asetat). Sedangkan yang dibuat berubah adalah tahapan sonikasi dengan amplitudo 50% dan 60% sebagai pembanding. Berdasarkan hasil peninjauan nilai berat molekul terendah dari *unsoluble* produk dan besarnya yield oligoglukosamin pada soluble

produk diketahui bahwa nilai terbaik terjadi pada kondisi amplitudo 60% untuk tahap 5 (yaitu pada berat molekul viskositas rata-rata (*unsoluble* produk) 139.5 kDa dan number average molecular weight (soluble produk) 288 Da dengan persen oligoglukosamin 5.56%). Namun apabila ditinjau dari segi teknik pengaplikasian, proses degradasi tahap 5 sangat sulit diaplikasikan dan memakan waktu sangat lama. Sehingga kondisi lain yang dipilih adalah amplitudo 50% tahap 3 (yaitu pada berat molekul viskositas rata-rata (*unsoluble* produk) 233 kDa dan number average molecular weight (soluble produk) 358.86Da dengan persen oligoglukosamin 4.42%).

Produk degradasi kitosan yang berupa glukosamin, dengan berat molekul 179,17 g/mol, dapat membantu membangun tulang sendi, tendon, tulang rawan, dan jaringan otot, sehingga dipercaya dapat mengobati *osteoarthritis* (*arthritis* yang menyerang tulang rawan). Dalam perusahaan lokal, glukosamin dikombinasikan dengan klorida atau sulfat sebagai penstabil/ *stabilizer*.

#### 4.2.4. Skema Degradasi Kitosan Dengan Cara Sonikasi

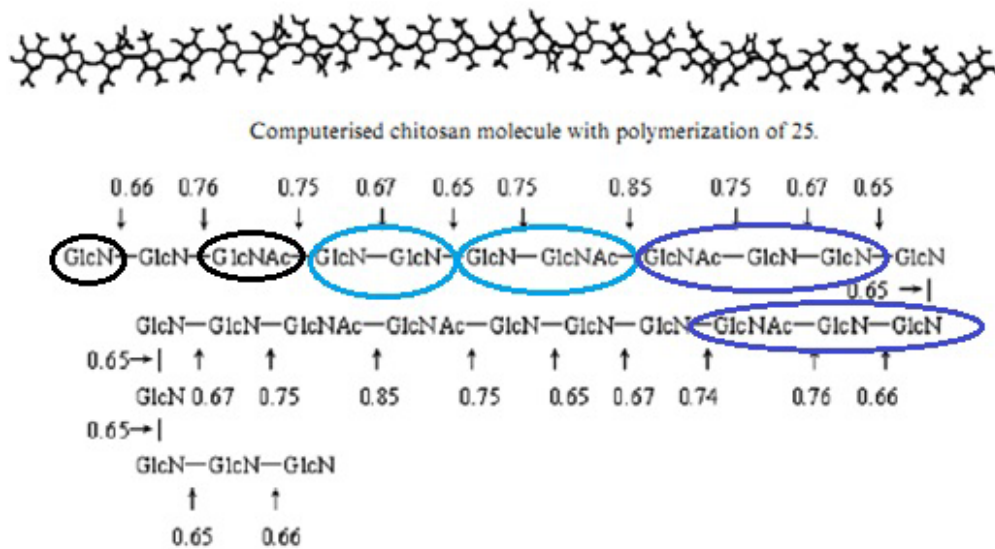
Untuk mempermudah penjelasan produk berdasarkan hasil – hasil analisa tersebut maka dibuat suatu skema. Gambar 4.19 adalah skema degradasi kitosan dengan cara sonikasi.



Gambar 4.19. Skema Degradasi Kitosan Dengan Cara Sonikasi Disertai Penambahan Asam Asetat (berdasarkan data hasil analisa produk)

Mula-mula kitosan dengan rantai panjang terpotong menjadi rantai yang lebih pendek dengan komposisi yang beragam. Baik glukosamin, n,n-diasetilchitobiose maupun glukosamin yang berikatan dengan n-asetil glukosamin. Pada tahap satu sonikasi pada soluble produk ditemukan produk Glc ; GINac; Glc-Glc; GINac-Glc-Glc; dan Glc-GINac-Glc. Skema pemotongan rantai kitosan sesuai dengan penelitian yang dilakukan Hui Liu (2006) bahwa pemotongan rantai kitosan tidak terjadi secara random dengan skema seperti yang tertera pada Gambar 4.20.

Kemudian apabila rantai kitosan dilakukan proses degradasi lanjut hingga diperoleh produk dengan berat molekul 139 kDa pada unsoluble produk, komposisi produk masih sama namun terjadi perubahan intensitas produk GINac; Glc-Glc; GINac-Glc-Glc; dan Glc-GINac-Glc disetiap tahapan sonikasi seperti pada Gambar 4.18. Sedangkan untuk produk glukosamin, intensitas dari kelimpahan produk tidak berubah dengan bertambahnya tahapan sonikasi. Sehingga dapat disimpulkan pemotongan rantai pada proses sonikasi lebih kearah glukosamin dibandingkan N-acetyl glukosamin.



Gambar 4.20. Komputerisasi Molekul Kitosan dengan Polimerisasi 25 (Hui Liu, 2006)

*Halaman ini sengaja dikosongkan*

## **BAB 5**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1. KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Pengaruh variasi amplitudo sonikasi terhadap produk degradasi kitosan adalah:
  - a. semakin tinggi amplitudo maka berat molekul kitosan semakin besar, dengan berat molekul terendah yang dapat dihasilkan adalah 248 kDa (amplitudo 50%) dan tertinggi 774 kDa (amplitudo 60%).
  - b. derajat kristalinitas kitosan tidak terlarut mengalami peningkatan setelah dilakukan penambahan amplitudo pada proses sonikasi.
  - c. derajat deasitilasi kitosan tidak terlarut mengalami penurunan setelah dilakukan penambahan amplitudo pada proses sonikasi.
2. Pengaruh proses sonikasi bertahap terhadap produk degradasi kitosan adalah:
  - a. berat molekul produk hasil sonikasi pada kitosan tidak terlarut berkurang dan menuju *lower molecular weight* dengan semakin besar jumlah tahapan sonikasi. Selain itu didapatkan nilai optimum pada berat molekul hasil sonikasi, ( $M_{lim} = 139$  kDa).
  - b. oligomer kitosan pada kitosan terlarut memiliki rentang derajat depolimerisasi (DP) 1-3 untuk amplitudo 50% dan 60%.
  - c. derajat kristalinitas kitosan tidak terlarut meningkat dari 19% menjadi 30.25% ( amplitudo 50%) dan 33.83% (amplitudo 60%).
  - d. derajat deasitilasi kitosan tidak terlarut turun dari 82% menjadi 75.87 % (amplitudo 50%) dan 66.07% (amplitudo 60%).
3. Kondisi proses degradasi kombinasi sonikasi bertahap berdasarkan persen yield glukosamin tertinggi terjadi pada amplitudo 60% tahap 5 dengan suhu 60<sup>0</sup>C dan waktu sonikasi 2 jam.

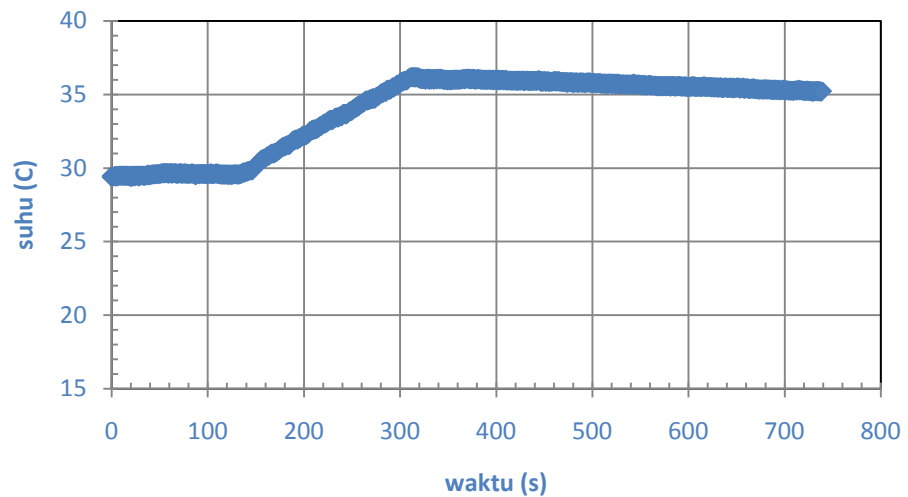
## 5.2. SARAN

1. Perlu dilakukan analisa lebih mendalam terhadap struktur rantai pada produk hasil degradasi yang berupa *soluble water chitosan* sehingga dapat dilakukan penelusuran terhadap mekanisme pemotongan rantai.
2. Perlu dilakukan analisa mendalam terhadap produk glukosamin yang dihasilkan apakah produk hasil degradasi dapat diaplikasikan dalam dunia farmasi ataupun produk kecantikan.
3. Perlu dilakukan penambahan gas inert saat proses sonikasi berlangsung sehingga mekanisme reaksi tidak mudah diganggu oleh oksigen yang ada dalam lingkungan.

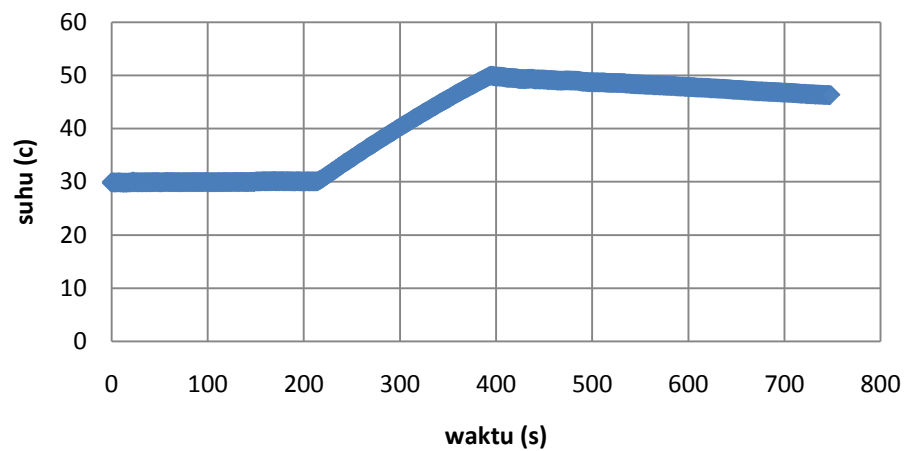
## APENDIK

### A. Proses Sonikasi

Penentuan Power Ultrasonik dengan metode kalorimetri dilakukan dengan cara melakukan perekaman suhu pada  $t = 0$  detik sampai  $t = 3$  menit (Mason,1990). Kemudian mesin sonikasi dihidupkan selama 3 menit dan kemudian suhu saat hingga setelah sonikasi tetap dilakukan perekaman dengan data taker. Hasil pencatatan suhu pada taker dibuat grafik hubungan suhu terhadap waktu seperti pada Gambar di bawah ini:

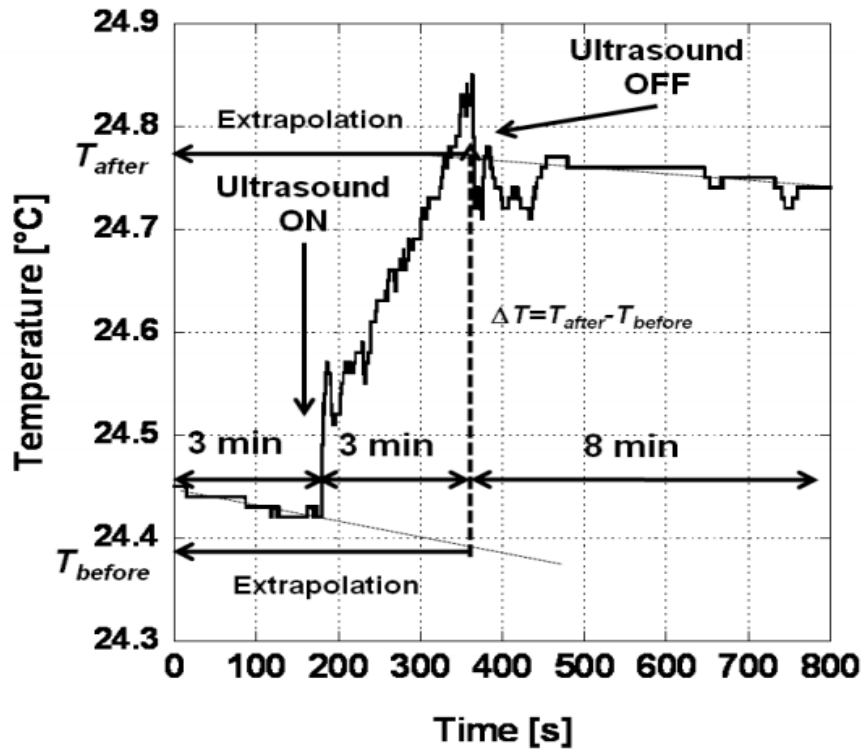


Gambar A.1. Grafik hubungan waktu terhadap suhu amplitudo 30%



Gambar A.2. Grafik hubungan waktu terhadap suhu amplitudo 60%

Dari grafik pada Gambar A.1 ditentukan  $\Delta T$  dengan menarik dua garis ekstrapolasi seperti pada Gambar A.3



Gambar A.3. Penentuan heating rate selama proses sonikasi (T Kikuchi dan T Uchida, 2012)

Rumus yang digunakan sebagai berikut:

$$P = mC_p \left( \frac{dT}{dt} \right)_{t=0}$$

P = power ultrasonic

C<sub>p</sub> = kapasitas panas spesifik, air = 4,19 J/ gram K

dT/dt = Hasil ekstrapolasi profil pada suhu mendekati 0

m = massa air (gram)

t = lamanya alat sonikasi dihidupkan (dalam penelitian ini t= 3 menit)



$$UI = \frac{4P}{\pi D^2}$$

Keterangan:

UI = *Ultrasonik Intensity*

P = Power Ultrasonik

D = Diameter tip (pada penelitian 1.3 cm)

Misal: amplitudo 30%

- Tsetelah sonikasi = 36.1 °C = 309.1 K
- Tsetelah sonikasi = 29.5 °C = 302.5 K
- Waktu sonikasi = 180 detik
- diketahui dari grafik dT/dt = 0.037°C;
- Massa air (V= 10 mL) = massa pikno+aquades – massa pikno kosong  
= 10.12847 gram
- Massa air (V= 200 mL) = 202.5694 gram
- Maka P (Power) = m. Cp<sub>air</sub>. dT/dt  
= 202.5694gr. 4,19 J/ gr.K . 0.037 K/detik  
= **31.121 Watt**

Sedangkan untuk amplitudo 20% sampai 70% diperoleh data sebagai berikut:

Tabel A.1. Hasil pengukuran power ultrasonik dan intensitas sonikasi pada variasi amplitude generator ultrasonik melalui metode kalorimetri

AMP (%)	T <sub>setelah</sub> sonikasi	T <sub>sebelum</sub> sonikasi	$\Delta T$	dT/dt	Power (Watt)	UI(Watt/cm <sup>2</sup> )
20	305.35	302.3	3.05	0.017	14.382	10.841
30	309.1	302.5	6.6	0.037	31.121	23.459
40	313.45	302.5	10.95	0.061	51.633	38.92
50	317.8	303	14.8	0.082	69.787	52.604
55	320.25	303	17.25	0.096	81.34	61.312
60	322.5	302.8	19.75	0.11	93.128	70.198
65	324.5	302	22.5	0.125	106.096	79.973
70	327	302.5	24.5	0.136	115.526	87.081

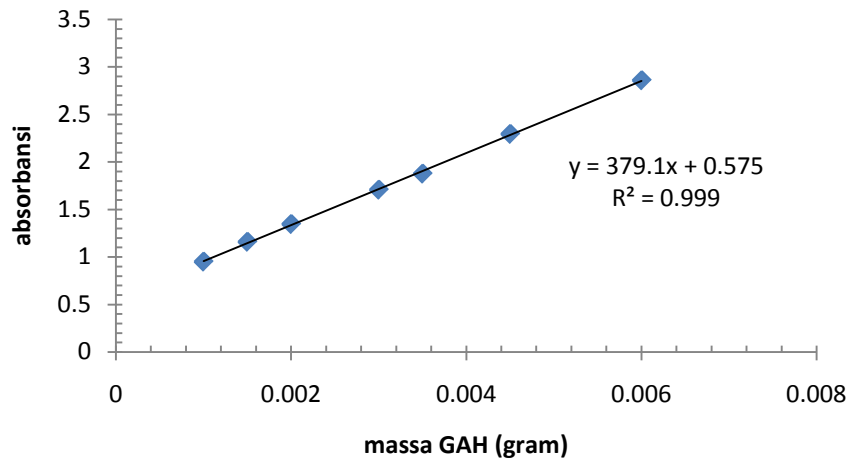
## A.1 Soluble Product

### A.1.1 Perhitungan *End Group Analysis*

1. Membuat Kurva standart seperti yang dihasilkan pada Tabel A.1.1.1.

Tabel A.1.1.1 Kurva Standart

Volume GAH (mL)	Absorbansi			Rata – rata absorbansi	Massa GAH (gram)
0,1	0,95	0,952	0,946	0,949	0,001
0,15	1,163	1,157	1,154	1,158	0,002
0,2	1,339	1,341	1,355	1,345	0,002
0,3	1,701	1,704	1,714	1,706	0,003
0,35	1,871	1,875	1,879	1,875	0,004
0,45	2,286	2,3	2,293	2,293	0,005
0,6	2,885	2,855	2,833	2,857	0,006



Gambar A.1.1.1. Kurva larutan standar penentuan *end grup analysis*

## 2. Penentuan *Number average molecular weight*

Diketahui:

- Konsentrasi asam asetat 1% level 2 (massa kitosan = gr)
- Berat *oligoglucosamine* yang didapat (hasil *freeze drying*) = 0,0279 gr
- Berat *oligoglucosamine* yang dipakai untuk analisis =  $W_1 = 0,0036$  gr
- Absorbansi rata-rata sampel yang terbaca dengan UV-VIS (y)  
= 1.415
- Massa GAH hasil pengukuran UV-Vis (x) =  $W_2 = (1.415 - 0.575) / 379.1 = 0.002216$

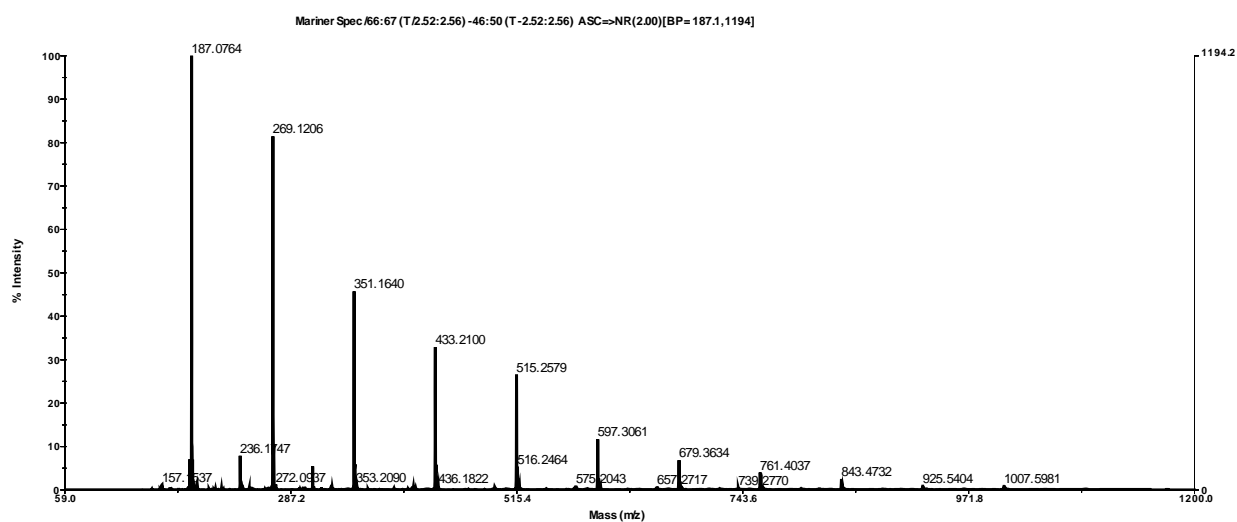
$$Mn = \frac{W_1}{W_2} \times 215,5$$

$$Mn = \frac{0,0036}{0,002216} \times 215,5 = 350.1259 = 350 \text{ Da}$$

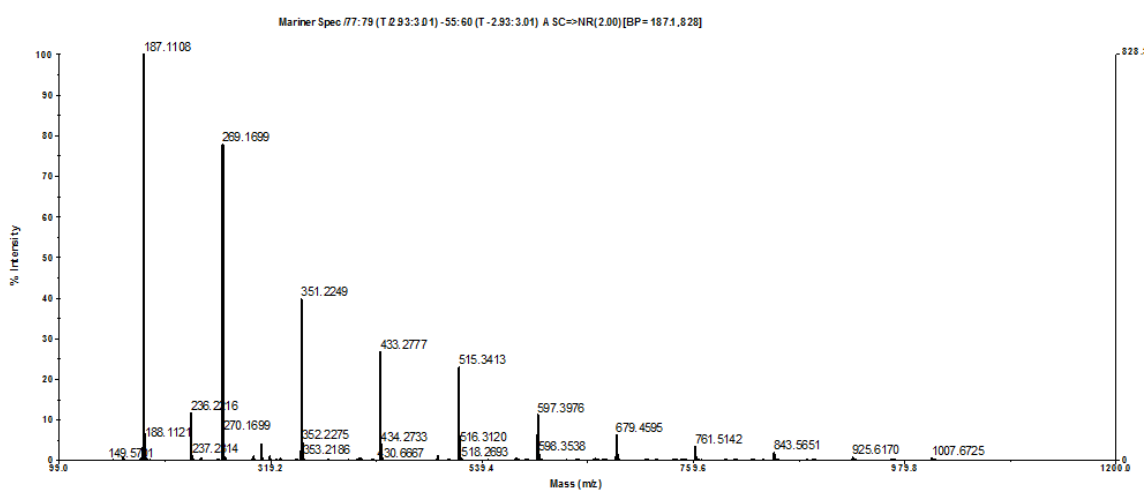
$$\%Yield = \frac{\text{berat oligoglucosamine yang didapat}}{\text{berat kitosan yang akan disonikasi}} \times 100$$

$$\%Yield = \frac{0,0279 \text{ gr}}{2 \text{ gr}} \times 100\% = 4,18\%$$

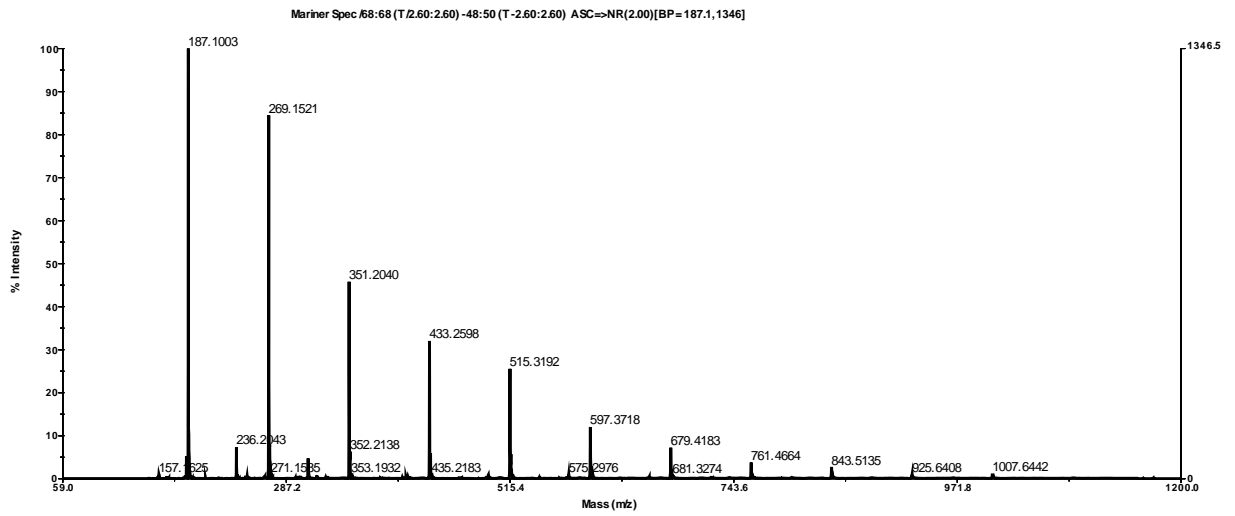
## A.1.2. Hasil Analisa Lc/Ms



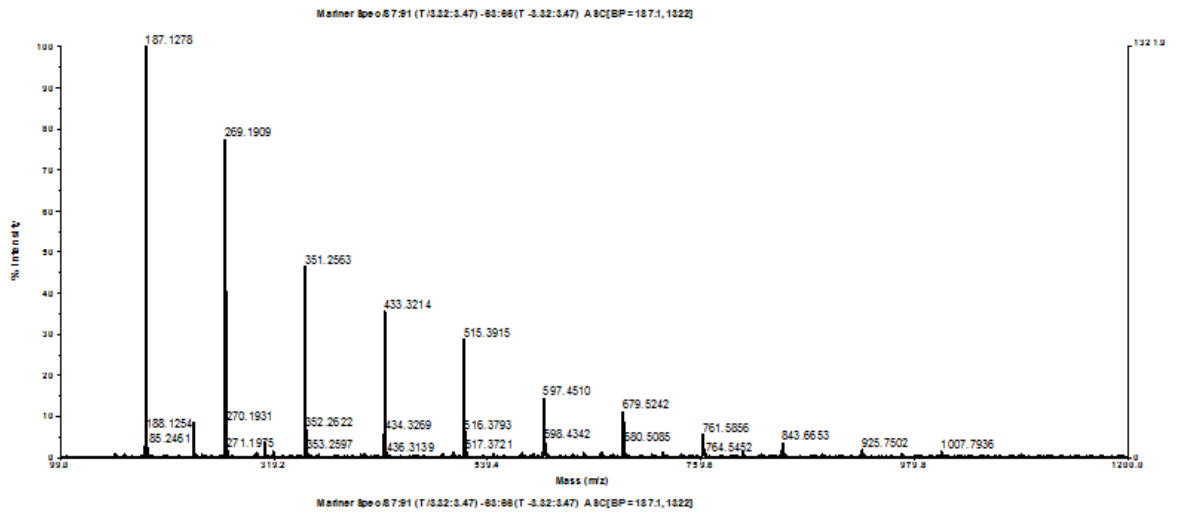
Gambar A.1.2.1 Spektrum LC-Ms pada amplitudo 50% tahap 1



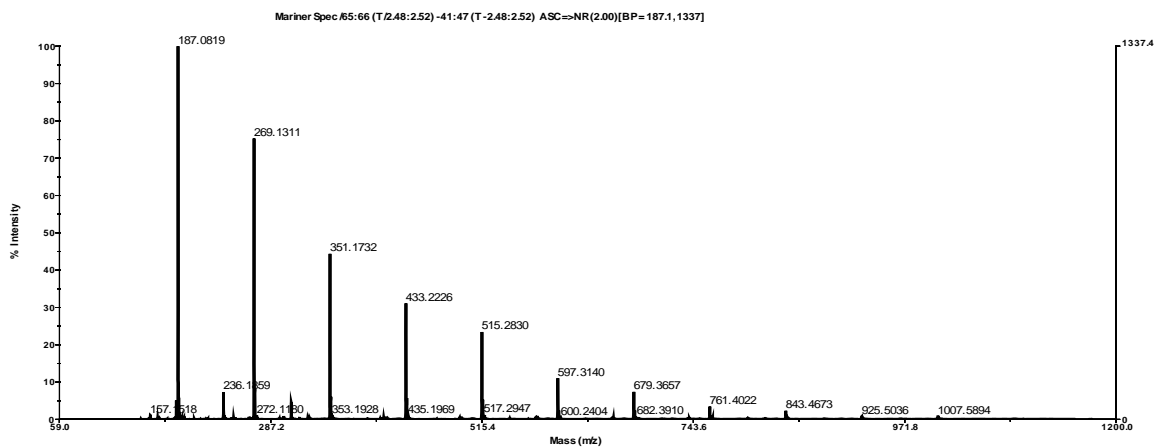
Gambar A.1.2.2. Spektrum LC-Ms pada amplitudo 50% tahap 3



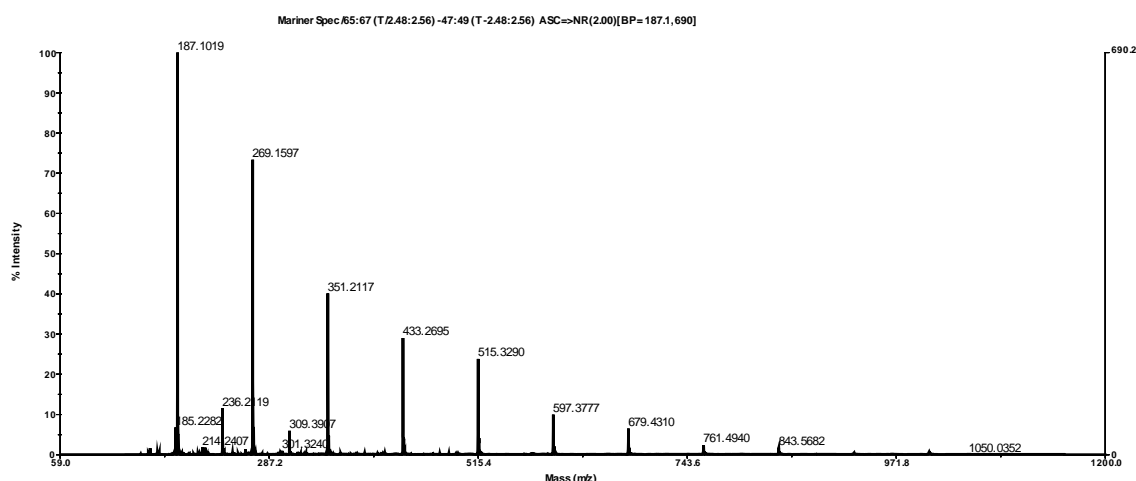
Gambar A.1.2.3. Spektrum LC-Ms pada amplitudo 50% tahap 5



Gambar A.1.2.4. Spektrum LC-Ms pada amplitudo 60% tahap 1



Gambar A.1.2.5. Spektrum LC-Ms pada amplitudo 60% tahap 3



Gambar A.1.2.6. Spektrum LC-Ms pada amplitudo 60% tahap 5

Pada analisa Lc/Ms terdapat produk yang produk masih bergabung dengan *pseudomolecular ions*. *Pseudomolecular ions* adalah ion yang dibentuk oleh eluent saat terjadi interaksi dengan ion larutan (sampel) yang kemudian ikut mengalami ionisasi saat memasuki sistem ESI (*Electrospray*). Berikut adalah kemungkinan *Pseudomolecular ions* yang terbentuk:

Tabel A.1.2.1. Jenis *Pseudomolecular ions* hasil analisa Lc/Ms

ion	m/z
(M+Na) <sup>+</sup>	(M+23)
(M+H+NH <sub>3</sub> ) <sup>+</sup>	(M+18)
(M+H+MeOH) <sup>+</sup>	(M+33)
(M+Na+CH <sub>3</sub> COO) <sup>-</sup>	(M+59)
(M+H+H <sub>2</sub> O-NH <sub>3</sub> ) <sup>+</sup>	(M+36)
(M+H-H <sub>2</sub> O) <sup>+</sup>	(M+19)
(M+2H-H <sub>2</sub> O) <sup>+</sup>	(M+20)
(M+HCOO) <sup>-</sup>	(M+45)

## A.2 *Unsoluble Product*

### A.2.1 Analisa Berat Molekul dengan viskometer Ubbelohde

Pengukuran berat molekul dari padatan residu kitosan digunakan viskometer *Ubbelohde Schott* Gerate type 53210 (Jerman) yang dilengkapi

dengan *water bath* dan *stopwatch*. cara penentuan berat molekul sebagai berikut:

Contoh : Hasil sonikasi 1% level 2 (massa sampel = 0.10015 gram)

1. Menghitung waktu untuk pelarut terlebih dahulu sebagai  $t_0$
2. Memasukkan data waktu yang diperoleh kemudian mengambil data rata-rata sebagai  $t$ .

**Tabel A-2.1.1. Hasil perhitungan waktu rata-rata**

Waktu (detik)	asam asetat 1% ( $t_0$ )	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>6</sub>	C <sub>7</sub>
		0,001	0,0008	0,0006	0,0004	0,0002	0,0001	0,00008
t <sub>1</sub>	145.3	210.7	196.1	182	168.9	156.1	151.1	149,7
t <sub>2</sub>	145.7	210.6	196	182.1	168.8	156.2	151	149,7
t <sub>3</sub>	145.6	210.1	196	182	168.9	156.1	151	149,6
t <sub>rata-rata</sub>	145.53	210.5	196	182	168.9	156.1	151	149,7

3. Menghitung viskositas relatif dengan rumus :

$$\eta_{rel} = t/t_0$$

4. Menghitung viskositas spesifik dengan rumus :

$$\eta_{sp} = \eta_{rel} - 1$$

5. Menghitung viskositas reduksi dengan rumus :

$$\eta_r = \eta_{sp} / C$$

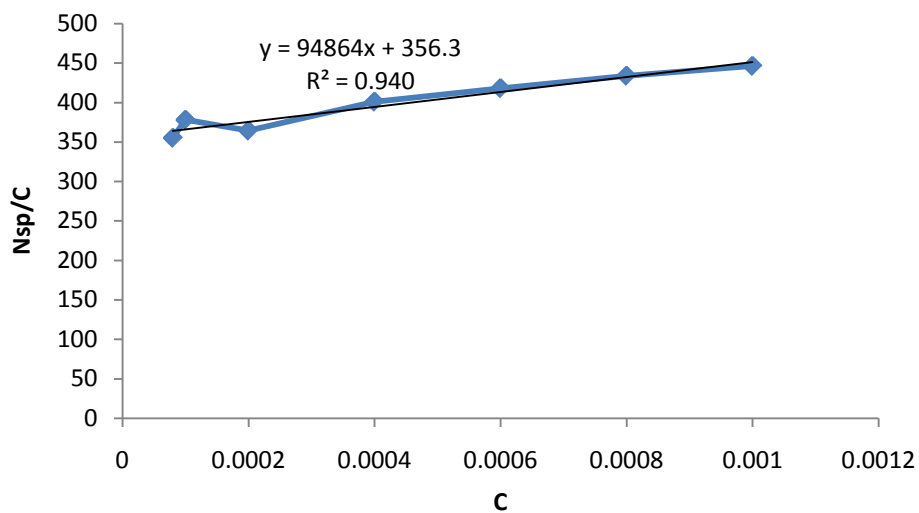
6. Menghitung viskositas inherent dengan rumus :

$$\eta_i = \ln(\eta_{rel} / C)$$

**Tabel A-2.1.2. Hasil perhitungan viskositas *inherent***

C, g/mL	$\eta_{rel}$	$\eta_{sp}$	$[\eta]_{red}$	$[\eta]_{inh}$
0,001	1.446175	0.446175	446.175	368.9221
0,0008	1.347	0.347	433.7494	372.3494
0,0006	1.250802	0.250802	418.0027	372.9744
0,0004	1.16033	0.16033	400.8246	371.7607
0,0002	1.072836	0.072836	364.1777	351.5259
0,0001	1.037792	0,035281	377.9203	370.9541
0,00008	1.028401	0.028401	355.016	350.068

7. Plot grafik antara viskositas reduksi dibagi konsentrasi terhadap konsentrasi kemudian menarik garis (*tredlines: linear*), hingga diperoleh persamaan garis linear.



**Gambar A.2.1.1. Grafik hubungan (viskositas spesifik/ konsentrasi) terhadap konsentrasi**



8. Menghitung berat molekul kitosan dengan persamaan Mark Houwink:

$$[\eta] = k \cdot M^\alpha$$

Dimana pengukuran pada suhu = 30°C, diperoleh :

$$k = 0,0474 \text{ ml/gr}$$

$$\alpha = 0,723$$

( $\eta$ ) = viskositas intrinsik larutan

Dari persamaan garis  $y = 94864x + 356.3$ , diperoleh :

Intercept = ( $\eta$ ) = 356.3 konsentrasi<sup>-1</sup> = 356.3 gram /mL

Maka: 356.3 gram/mL = 0.0474 mL/gram x  $Mv^{0.723}$

$$Mv = 235.918,74 \text{ Da}$$

Berdasarkan hasil penentuan viskositas intrinsik didapatkan data sebagai berikut:

Tabel A-2.1.3. Perubahan viskositas intrinsik dan berat molekul rata-rata disetiap tahapan sonikasi

Tahapan	Viskositas Intrinsik		Mv (kDa)	
	Amp = 50%	Amp = 60%	Amp = 50%	Amp = 60%
0	2482.3	2482.3	3700	3700
1	363.22	823.4	248	774
2	356.31	700.6	242	348
3	347.2	540.3	233	217
4	328.6	317.2	216	206
5	270	239.8	164	144
6	239.3	238.3	139	138

Sedangkan ratio penurunan berat molekul ditentukan sebagai berikut (R.H.Chen, 1997):

$$\text{Ratio penurunan } Mv = 1 - M_t/M_0$$

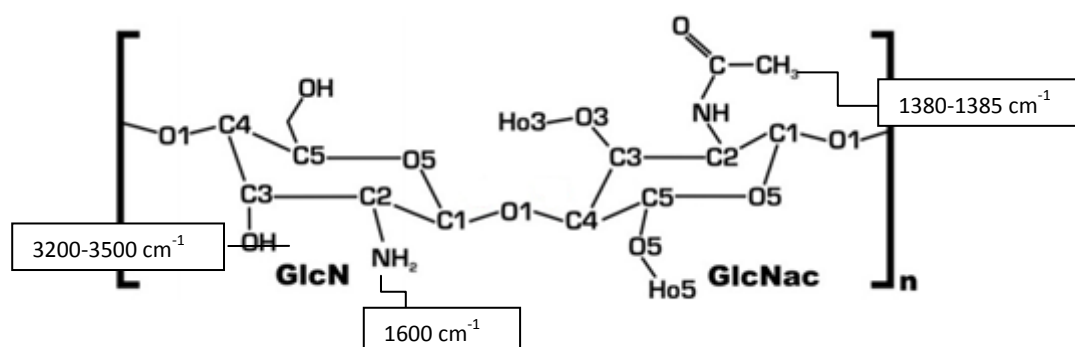
$M_t$  dan  $M_0$  adalah berat molekul rata-rata kitosan setelah dan sebelum sonikasi. Berikut adalah hasil penentuan ratio penurunan berat molekul:

Tabel A-2.1.4. Hasil penentuan ratio penurunan berat molekul

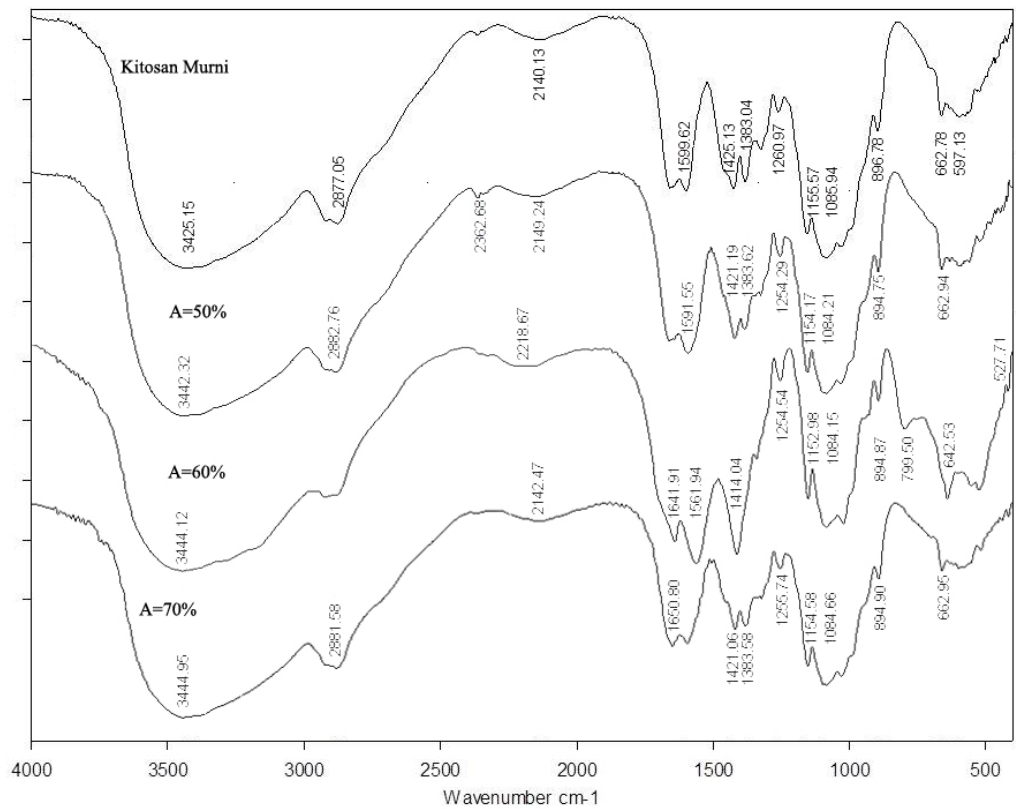
Tahapan Sonikasi	Berat Molekul (kDa)		Ratio Penurunan Berat Molekul	
	Amp=50%	Amp=60%	Amp=50%	Amp=60%
0	3700	3700	0	0
1	248	774	93.30	79.08
2	242	618	93.46	83.30
3	233	431	93.70	88.35
4	216	206	94.16	94.44
5	164	139	95.57	96.23
6	139	138	96.24	96.26

### A.2.2 Hasil Analisa Gugus Fungsi dan Derajat Deasetilasi dengan FTIR

Analisa gugus fungsi padatan kitosan dan derajat deasetilasi dengan menggunakan FTIR Bruker Tensor 27 (Jerman). Padatan kitosan dianalisa dengan FTIR dalam bentuk pellet. Sampel dicampur dengan KBr dengan konsentrasi 5% berat. Pelet sampel dibuat dengan tekanan 10 ton. Spektrum IR dibuat pada range frekuensi  $4000-500\text{ cm}^{-1}$ .



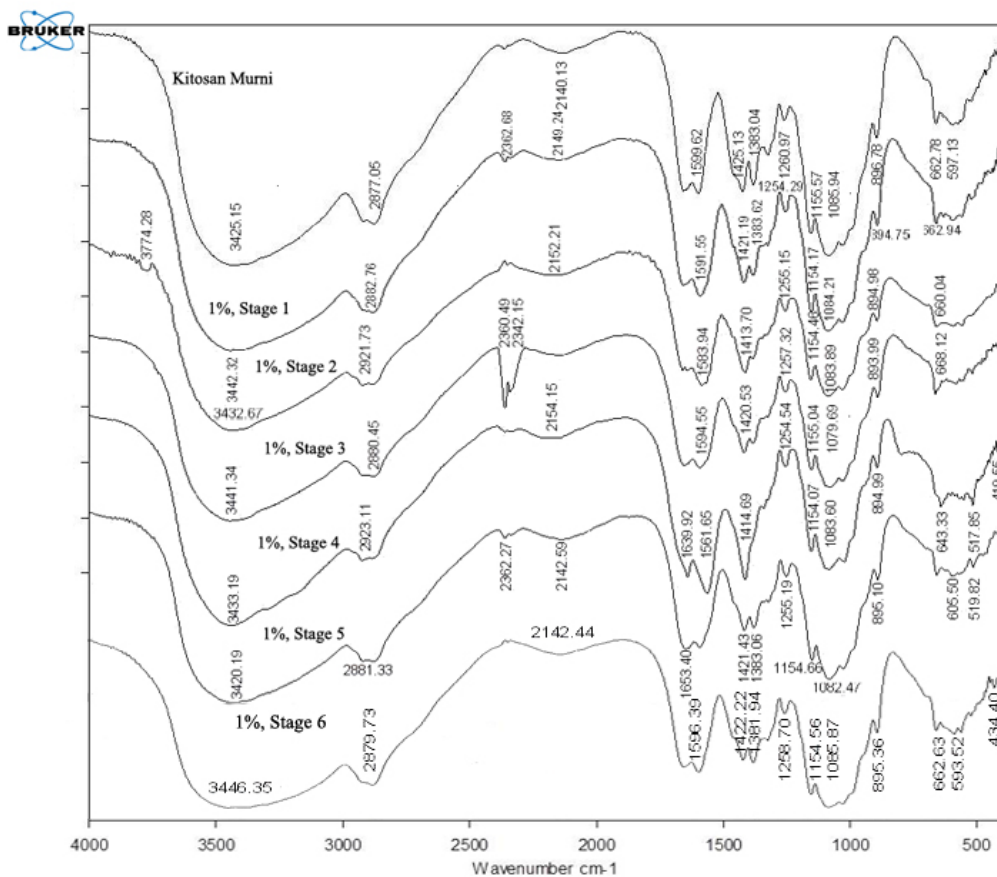
Gambar A.2.2.1. struktur rantai kitosan



Gambar A.2.2.2 Spekturum FT-Ir pada variasi amplitudo generator ultrasonic

Tabel A.2.2.1. Gugus fungsi rantai kitosan setelah dan sebelum sonikasi pada variasi amplitudo

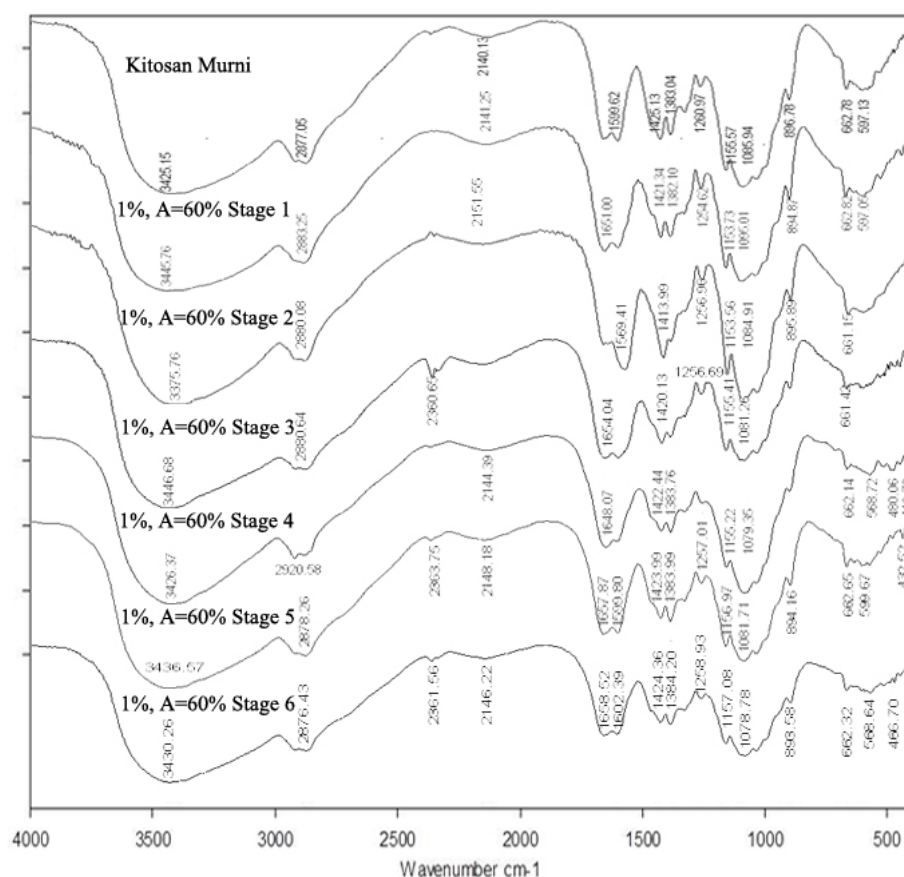
	Murni		50%		60%		70%	
	IR (cm <sup>-1</sup> )	Tr (%)	IR (cm <sup>-1</sup> )	Tr (%)	IR (cm <sup>-1</sup> )	Tr (%)	IR (cm <sup>-1</sup> )	Tr (%)
O-H, N-H stretching	3425	0.159	3442	0.196	3446	0.084	3445	0.212
C-H stretching (half N-acetylated)	2877	0.306	2882	0.340	2883	0.395	2882	0.36
N-H bending of NH <sub>2</sub>	1600	0.416	1592	0.402	1600	-	1600	-
Amide I band (weak)	1650	-	1650	-	1651	0.225	1651	0.466
CH <sub>2</sub> bending	1425	0.422	1421	0.453	1421	0.174	1421	0.513
CH <sub>3</sub> pada acetyl groups	1383	0.445	1384	0.481	1382	0.360	1384	0.518
O-H bending	1261	0.680	1254	0.721	1255	0.871	1256	0.738
Asymmetric bridge oxygen (C-O-C) stretching	1156	0.272	1154	0.341	1154	0.381	1155	0.381
C-O (-C-O-C-) stretching asym	1086	0.194	1084	0.270	1096	0.273	1084	0.311
Glucose ring stretching	896	0.616	895	0.671	895	0.783	895	0.697



Gambar A.2.2.3 Spekturm FT-IR pada variasi jumlah tahapan sonikasi untuk amplitudo 50%

Tabel A.2.2.2. Gugus fungsi rantai kitosan pada variasi variasi jumlah tahapan sonikasi untuk amplitudo 50%

komponen	Kitosan Murni		Sonikasi 50%. Stage 1		Sonikasi 50%. Stage 3		Sonikasi 50%. Stage 5	
	IR (cm <sup>-1</sup> )	Tr (%)	IR (cm <sup>-1</sup> )	Tr (%)	IR (cm <sup>-1</sup> )	Tr (%)	IR (cm <sup>-1</sup> )	Tr (%)
O-H, N-H <i>stretching</i>	3425	0.159	3442	0.196	3441	0.340	3420	0.232
C-H <i>stretching</i> (half <i>N-acetylated</i> )	2877	0.306	2882	0.340	2880	0.499	2881	0.4
N-H <i>bending</i> dari NH <sub>2</sub>	1600	0.416	1592	0.402	1594	0.530	1596	-
CH <sub>2</sub> <i>bending</i> CH <sub>3</sub> pada <i>acetyl groups</i>	1425	0.422	1421	0.453	1420	0.584	1421	0.528
O-H <i>bending</i>	1383	0.445	1384	0.481	1380	0.617	1383	0.54
Asym <i>bridge oxygen</i> (C-O-C) <i>stretching</i>	1261	0.680	1254	0.721	1257	0.800	1255	0.75
C-O (-C-O-C-) <i>stretching asym</i>	1156	0.272	1154	0.341	1155	0.522	1154	0.408
Glucose ring <i>stretching</i>	1086	0.194	1084	0.270	1080	0.459	1092	0.332
	896	0.616	895	0.671	894	0.781	895	0.736



Gambar A.2.2.4 Spekturum FT-Ir pada variasi jumlah tahapan sonikasi untuk amplitudo 60%

Tabel A.2.2.3. Gugus fungsi rantai kitosan setelah dan sebelum sonikasi pada variasi variasi jumlah tahapan sonikasi untuk amplitudo 60%

komponen	Kitosan Murni		Sonikasi 60%. Stage 1		Sonikasi 60%. Stage 3		Sonikasi 60%. Stage 5	
	IR (cm <sup>-1</sup> )	Tr (%)	IR (cm <sup>-1</sup> )	Tr (%)	IR (cm <sup>-1</sup> )	Tr (%)	IR (cm <sup>-1</sup> )	Tr (%)
O-H, N-H stretching	3425	0.159	3446	0.084	3447	0.355	3437	0.304
C-H stretching (half N-acetylated)	2877	0.306	2883	0.395	2880	0.505	2878	0.439
N-H bending of NH <sub>2</sub>	1600	0.416	1600	-	1600	-	1600	0.537
Amide I band (weak)	1650	-	1651	0.225	1654	0.548	1657	0.528
CH <sub>2</sub> bending	1425	0.422	1421	0.174	1420	0.606	1424	0.593
CH <sub>3</sub> pada acetyl groups	1383	0.445	1382	0.360	1382	0.631	1384	0.582
O-H bending	1261	0.680	1255	0.871	1257	0.793	1259	0.743
Asymmetric bridge oxygen (C-O-C) stretching	1156	0.272	1154	0.381	1155	0.578	1155	0.481
C-O (-C-O-C-) stretching asym	1086	0.194	1096	0.273	1081	0.539	1079	0.419
Glucose ring stretching	896	0.616	895	0.783	896	0.816	894	0.735

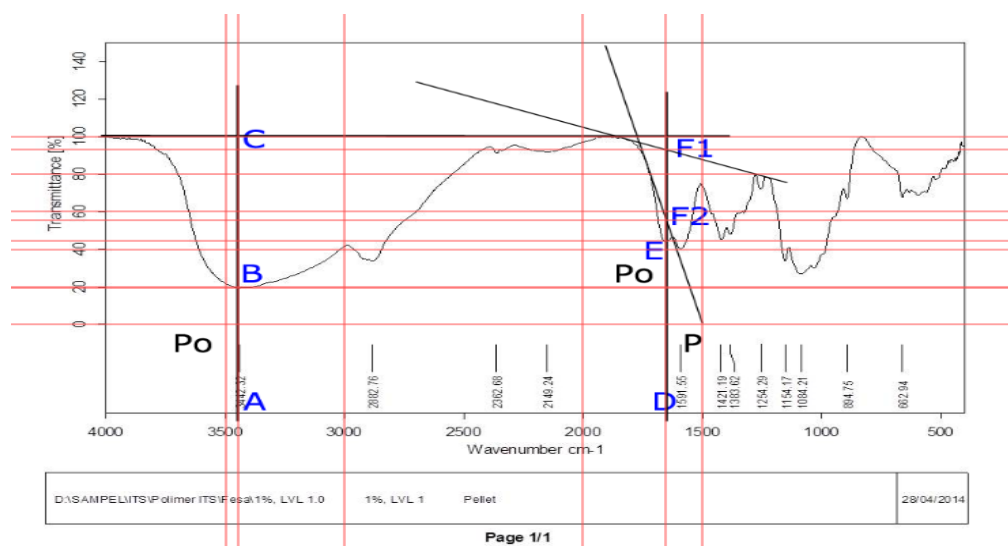
### Cara Perhitungan Derajat Deasetilasi :

Contoh : Sonikasi awal 1% (% v/v)

1. Mengukur tinggi peak panjang gelombang 3450 dan 1655 pada Gambar A.2.2.5.
2. Menghitung absorbansi pada panjang gelombang 1655 dan 3450 dengan rumus :

$$A_{1655} = \log\left(\frac{DF_2}{DE}\right) = 0,0822$$

$$A_{3450} = \log\left(\frac{AB}{AC}\right) = 0,705$$



Gambar A.2.2.5. Cara penentuan base line b

3. Menghitung derajat deasetilasi dengan rumus :

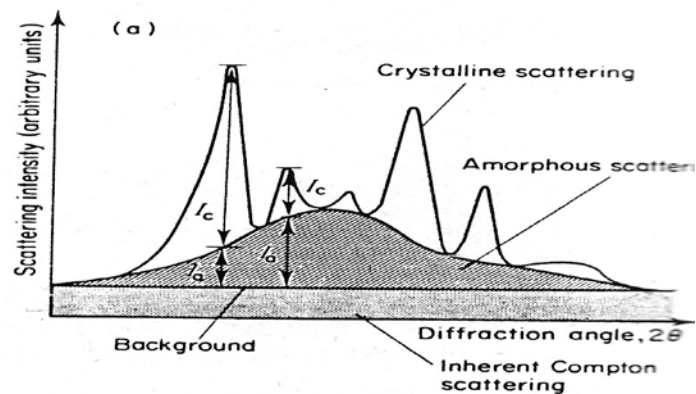
$$\%Deasetilasi = 100 - \left[ \left( \frac{A_{1655}}{A_{3450}} \right) \times 155 \right]$$

$$\%Deasetilasi = 100 - \left[ \left( \frac{0,0822}{0,705} \right) \times 155 \right] = 86,58\%$$

4. Menghitung derajat deasetilasi untuk variabel lain.

### A.2.3 Analisa Derajat Kristalinitas dengan XRD

Pengukuran kristalinitas dilakukan dengan menggunakan X-ray diffraction (XRD) PANalytical PW 3373/00 X'Pert X-ray diffractometer, Netherland dengan  $\text{CuK}\alpha = 1.54$  pada 40 kV-30 mA. Intensitas relative diukur pada range sudut ( $2\theta$ ) dari 0 – 90°. Menghitung luasan daerah kristal dan amorf dengan menggunakan software imageJ.



Gambar A.2.3.1. Cara Penentuan Derajat Kristalinitas

Persamaan untuk menghitung derajat kristalinitas ( $X_c$ ):

$$X_c = \frac{A_{crystal}}{A_{total}} \times 100$$

Dengan luas area kristal, yaitu:

$$A_{crystal} = A_{total} - A_{amorf}$$

Contoh perhitungan derajat kristalinitas untuk proses sonikasi awal 1% (%v/v) :

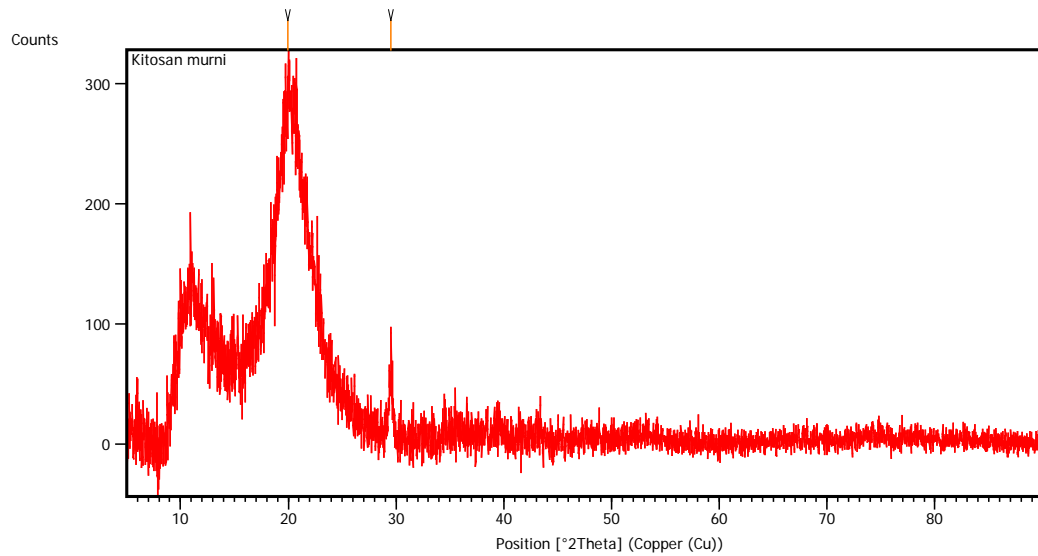
$$A_{crystal} = A_{total} - A_{amorf}$$

$$A_{crystal} = 1671 - 338$$

$$A_{crystal} = 1333$$

$$X_c = \frac{A_{crystal}}{A_{total}} \times 100$$

$$X_c = \frac{1333}{1671} \times 100 = 20.20 \%$$

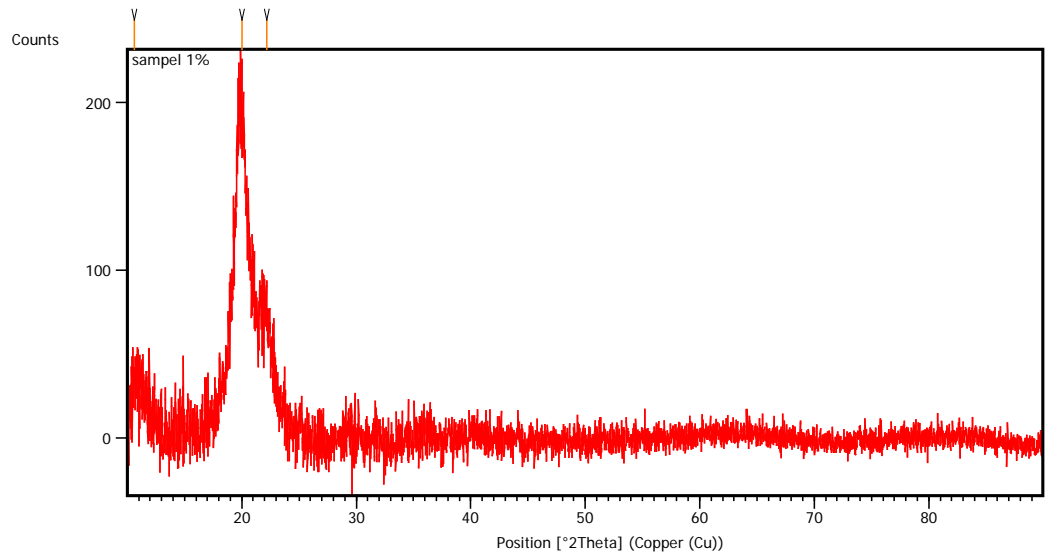


Gambar A.2.3.1. Hasil analisa XRD kitosan murni

Tabel A.2.3.1. Hasil analisa XRD kitosan murni

Pos. [°2Th.]	Height [cts]	FWHM Left [°2Th.]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]
19.9325	102.28	0.9368	4.45454	100.00
29.5061	59.40	0.2676	3.02740	58.07

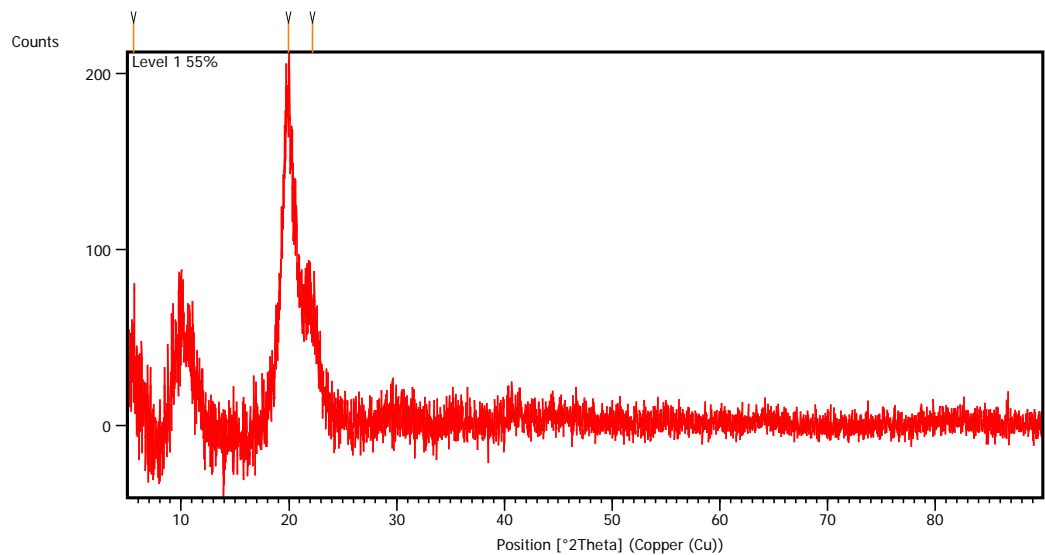




Gambar A.2.3.2. Hasil analisa XRD Amplitudo 50%

Tabel A.2.3.2. Hasil analisa XRD Amplitudo 50%

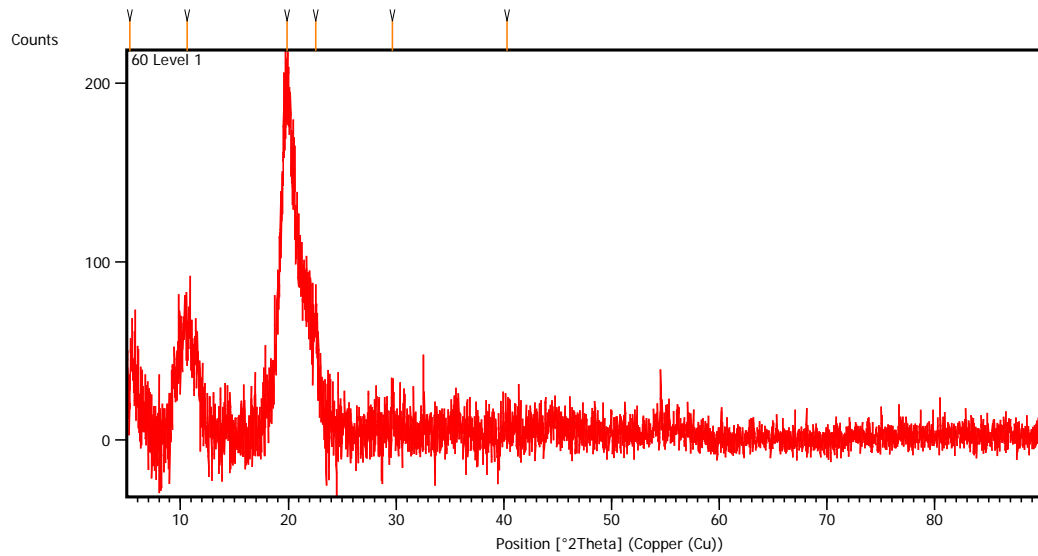
Pos. [°2Th.]	Height [cts]	FWHM Left [°2Th.]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]
10.6370	51.65	0.9368	8.31715	29.89
20.0395	172.78	0.4015	4.43098	100.00
22.1752	56.72	0.8029	4.00883	32.83



Gambar A.2.3.3. Hasil analisa XRD Amplitudo 55 %

Tabel A.2.3.3. Hasil analisa XRD Amplitudo 55 %

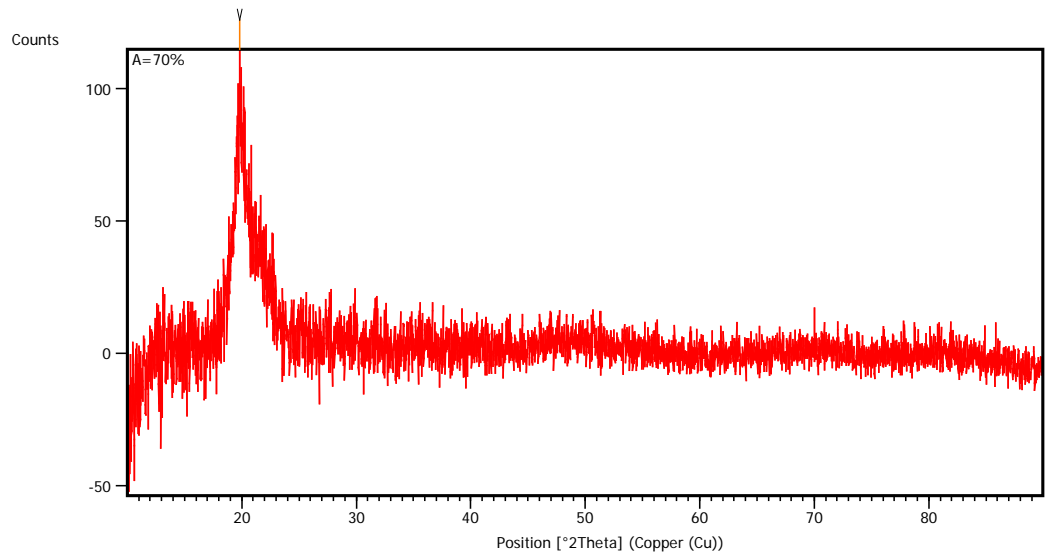
Pos. [ $^{\circ}2\text{Th.}$ ]	Height [cts]	FWHM Left [ $^{\circ}2\text{Th.}$ ]	d-spacing [ $\text{\AA}$ ]	Rel. Int. [%]
5.5574	71.46	0.4015	15.90259	42.95
19.9468	166.40	0.6022	4.45137	100.00
22.1984	49.59	0.8029	4.00469	29.80



Gambar A.2.3.4. Hasil analisa XRD Amplitudo 60%

Tabel A.2.3.4. Hasil analisa XRD Amplitudo 60%

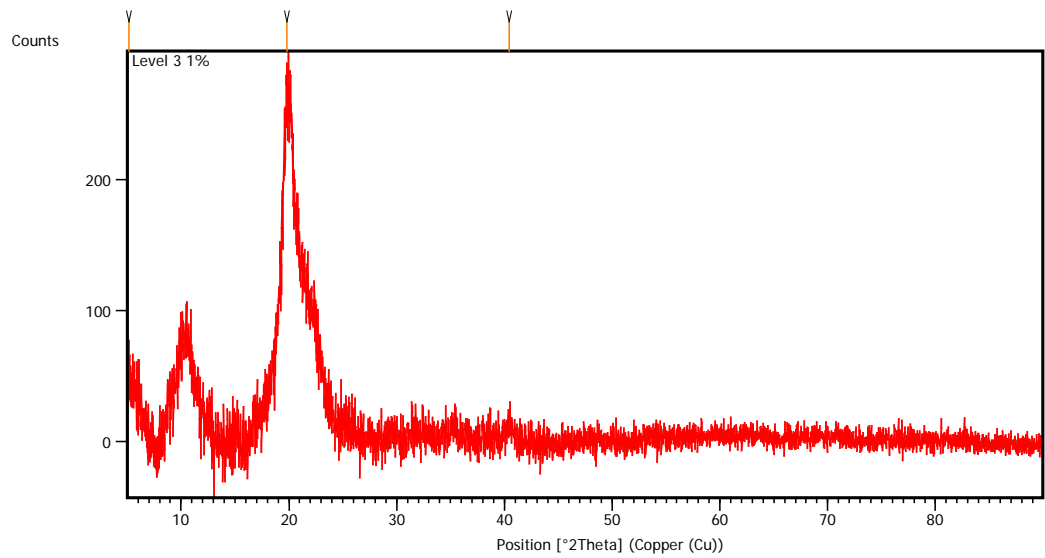
Pos. [ $^{\circ}2\text{Th.}$ ]	Height [cts]	FWHM Left [ $^{\circ}2\text{Th.}$ ]	d-spacing [ $\text{\AA}$ ]	Rel. Int. [%]
5.3196	70.77	0.8029	16.61307	36.67
10.6373	45.44	0.9368	8.31693	23.54
19.9053	193.02	0.6691	4.46055	100.00
22.5739	61.23	0.4015	3.93892	31.72
29.6775	21.55	0.2007	3.01030	11.16
40.2902	9.82	0.8029	2.23850	5.09



Gambar A.2.3.5. Hasil analisa XRD Amplitudo 70%

Tabel A.2.3.5. Hasil analisa XRD Amplitudo 70%

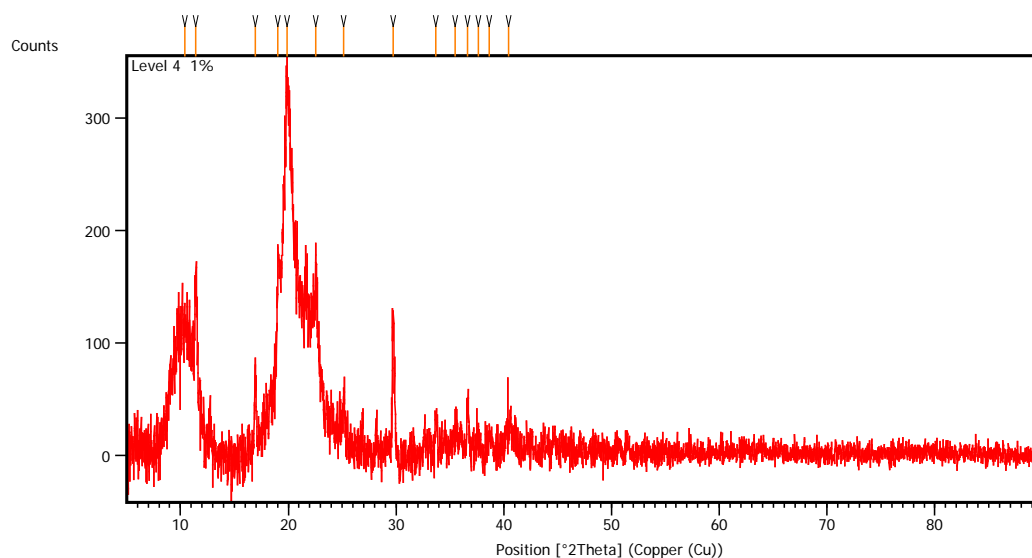
Pos. [°2Th.]	Height [cts]	FWHM Left [°2Th.]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]
19.8287	60.63	0.8160	4.47392	100.00



Gambar A.2.3.6. Hasil analisa XRD tahap 3 amplitudo 50%

Tabel A.2.3.6. Hasil analisa XRD tahap 3 amplitudo 50%

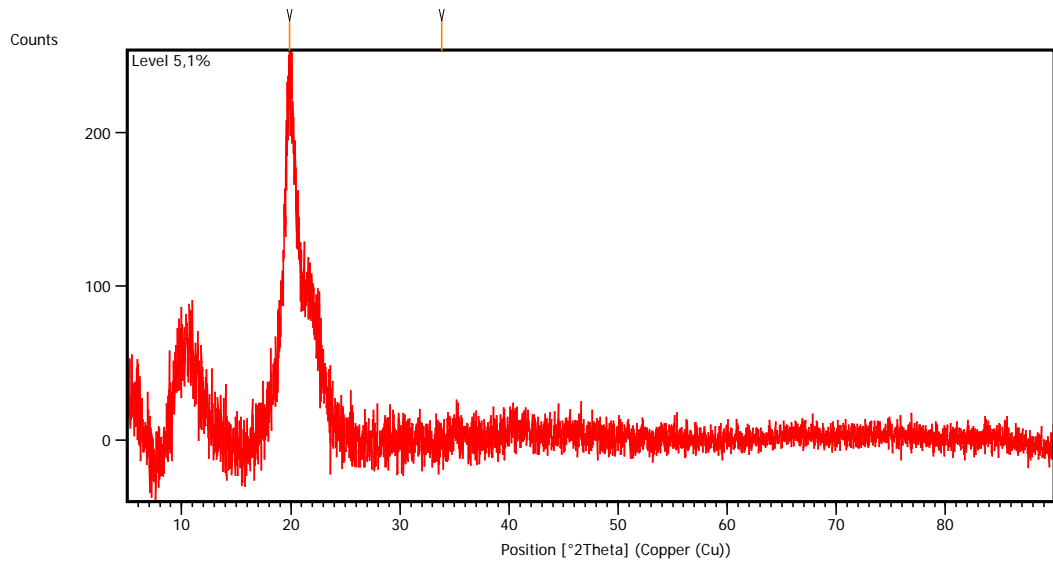
Pos. [ $^{\circ}2\text{Th.}$ ]	Height [cts]	FWHM Left [ $^{\circ}2\text{Th.}$ ]	d-spacing [ $\text{\AA}$ ]	Rel. Int. [%]
5.1371	62.31	0.2007	17.20286	34.31
19.8292	181.58	0.2676	4.47751	100.00
40.4325	11.97	0.8029	2.23095	6.59



Gambar A.2.3.7. Hasil analisa XRD tahap 4 amplitudo 50%

Tabel. A.2.3.7. Hasil analisa XRD tahap 4 amplitudo 50%

Pos. [ $^{\circ}2\text{Th.}$ ]	Height [cts]	FWHM Left [ $^{\circ}2\text{Th.}$ ]	d-spacing [ $\text{\AA}$ ]	Rel. Int. [%]
10.4347	79.83	0.8029	8.47795	23.65
11.4291	141.99	0.2342	7.74247	42.06
16.9584	79.21	0.1673	5.22845	23.46
19.0304	184.73	0.1338	4.66361	54.72
19.8845	337.59	0.4015	4.46518	100.00
22.5315	169.43	0.1673	3.94623	50.19
25.1667	51.67	0.2007	3.53868	15.31
29.7171	115.37	0.1673	3.00638	34.17
33.7143	33.35	0.1338	2.65852	9.88
35.4726	16.80	0.6691	2.53068	4.98
36.6307	38.32	0.1673	2.45328	11.35
37.6138	17.96	0.3346	2.39140	5.32
38.6745	13.35	0.4015	2.32822	3.95
40.4282	17.99	0.6691	2.23118	5.33

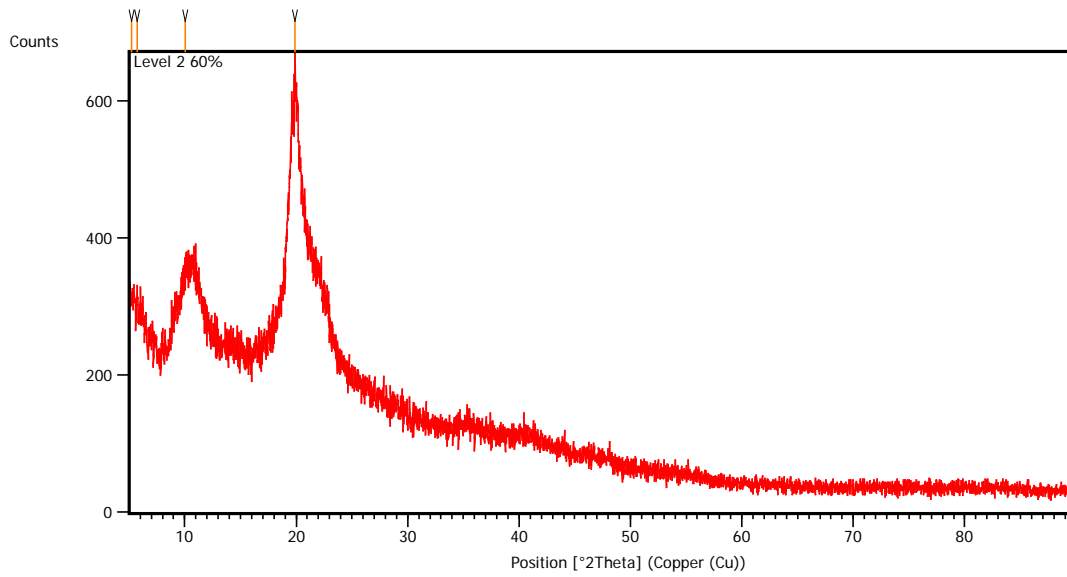


Gambar A.2.3.8. Hasil analisa XRD tahap 5 amplitudo 50%

Tabel. A.2.3.8. Hasil analisa XRD tahap 5 amplitudo 50%

Pos. [ $^{\circ}2\text{Th.}$ ]	Height [cts]	FWHM Left [ $^{\circ}2\text{Th.}$ ]	d-spacing [ $\text{\AA}$ ]	Rel. Int. [%]
19.8788	162.01	0.6691	4.46644	100.00
33.8343	2.80	0.2342	2.64937	1.73

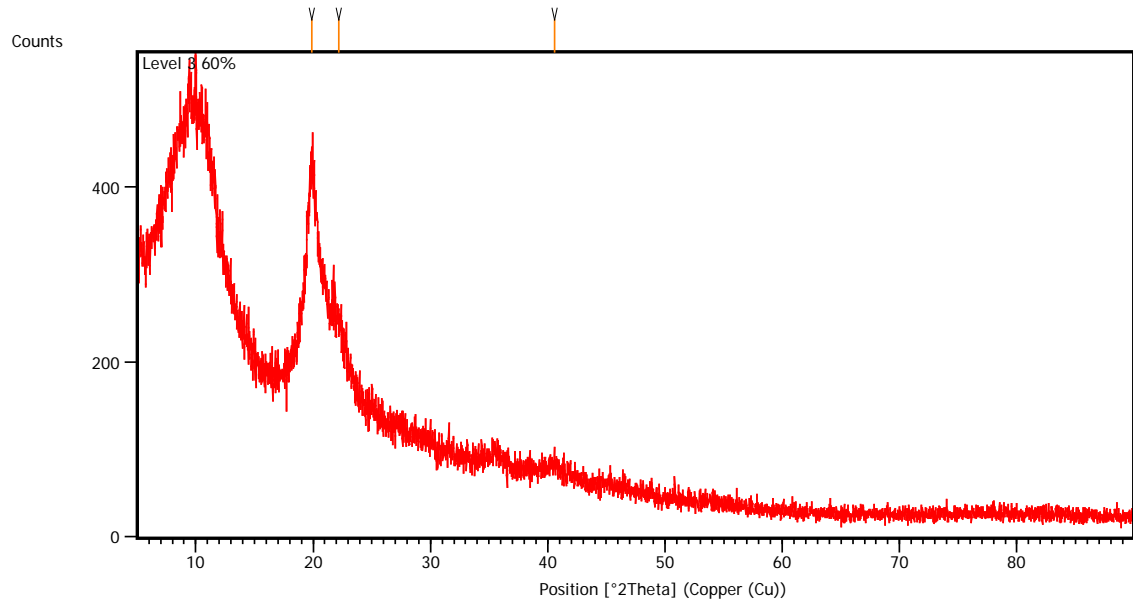
Pos. [ $^{\circ}2\text{Th.}$ ]	Height [cts]	FWHM Left [ $^{\circ}2\text{Th.}$ ]	d-spacing [ $\text{\AA}$ ]	Rel. Int. [%]
5.3196	70.77	0.8029	16.61307	36.67
10.6373	45.44	0.9368	8.31693	23.54
19.9053	193.02	0.6691	4.46055	100.00
22.5739	61.23	0.4015	3.93892	31.72
29.6775	21.55	0.2007	3.01030	11.16
40.2902	9.82	0.8029	2.23850	5.09



Gambar A.2.3.10. Hasil analisa XRD tahap 2 amplitudo 60%

Tabel. A.2.3.10. Hasil analisa XRD tahap 2 amplitudo 60%

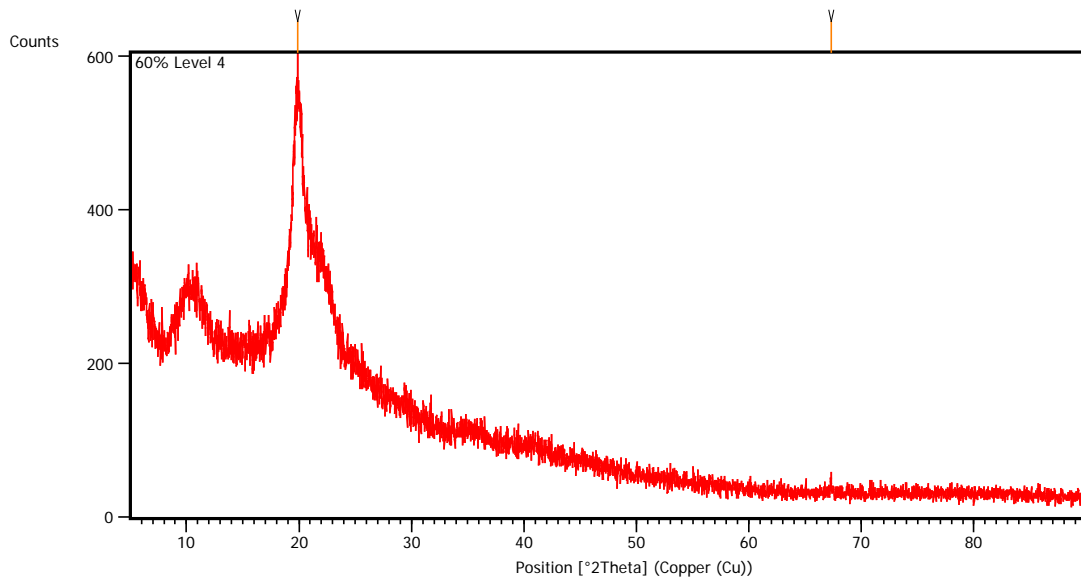
Pos [ $^{\circ}2\text{Th.}$ ]	Height [cts]	FWHM Left [ $^{\circ}2\text{Th.}$ ]	d-spacing [ $\text{\AA}$ ]	Rel. Int. [%]
5.2627	75.53	0.4015	16.79244	26.78
5.7353	81.73	0.1338	15.40987	28.98
10.0326	71.91	0.6691	8.81681	25.49
19.9214	282.07	0.6022	4.45698	100.00



Gambar A.2.3.11. Hasil analisa XRD tahap 3 amplitudo 60%

Tabel. A.2.3.11. Hasil analisa XRD tahap 3 amplitudo 60%

Pos [°2Th.]	Height [cts]	FWHM Left [°2Th.]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]
19.8588	228.15	0.3346	4.47089	100.00
22.1571	67.67	0.8029	4.01206	29.66
40.6027	9.50	0.8029	2.22199	4.17

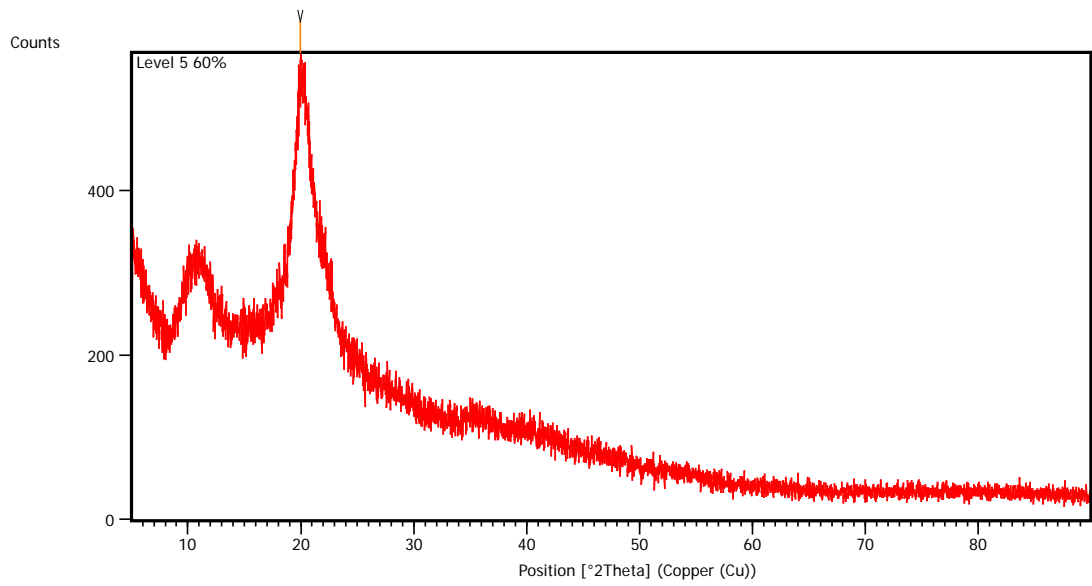


Gambar A.2.3.12. Hasil analisa XRD tahap 4 amplitudo 60%

Tabel. A.2.3.12. Hasil analisa XRD tahap 4 amplitudo 60%

Pos [°2Th.]	Height [cts]	FWHM Left [°2Th.]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]
19.8556	245.15	0.5353	4.47160	100.00
67.3014	14.52	0.1004	1.39126	5.92

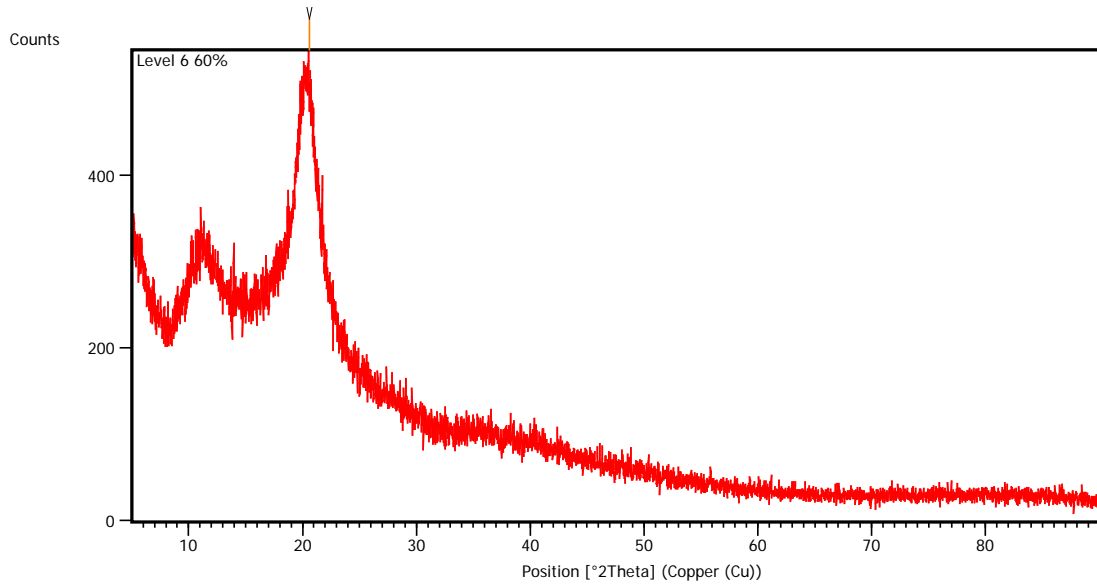




Gambar A.2.3.13. Hasil analisa XRD tahap 5 amplitudo 60%

Tabel. A.2.3.13. Hasil analisa XRD tahap 5 amplitudo 60%

Pos. [°2Th.]	Height [cts]	FWHM Left [°2Th.]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]
19.9675	197.57	0.7344	4.44312	100.00



Gambar A.2.3.14. Hasil analisa XRD tahap 6 amplitudo 60%

Tabel. A.2.3.14. Hasil analisa XRD tahap 6 amplitudo 60%

Pos. [°2Th.]	Height [cts]	FWHM Left [°2Th.]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]
20.6356	158.00	0.5712	4.30075	100.00

## DAFTAR PUSTAKA

- Adeuwiyi, Y.G., (2001), "Sonochemistry: Environmental Science And Engineering Applications", *Ind, Eng Chem Res*, Vol. 40, hal. 4681–4715.
- Alistair, (1995), "Food Polysaccharides And Their Application", Departemen of Chemistry-Department of Capetown and Rodenbosch.
- Anita Handaratri, (2013), "Pengaruh Penambahan Asam Asetat Pada Degradasi Kitosan Dengan Metode Sonikasi Dan Hidrotermal", Tesis, Teknik Kimia- Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Banks, C.E., dan Compton, R.G., (2003), *ChemPhysChem*, Vol.4, hal.169.
- Chowdhury, P., Viraraghavan T, (2009), "Sonochemical Degradation of Chlorinated Organic Compounds, Phenolic Compounds and Organic Dyes— a Review", *Sci Total Environ*, Vol. 407, hal. 2474–2492.
- Dodane, V., Vilivalam, V.D., (1998), "Pharmaceutical Applications of Chitosan", *PSTT*, Vol. 1, hal. 246-253.
- Dolatowski, Z.J., Stadnik, J., Stasiak, D., (2007), *Application of Ultrasound in Food Technology*, Acta Sci, Pol., Technol, Aliment, Vol.6(3), hal. 89-99.
- Emma Savitri, (2013), "Hidrolisis Kitosan dengan Kombinasi Proses Sonikasi dan Hidrotermal untuk Aplikasi Medis dan Farmasi", *Disertasi*, Teknik Kimia- Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Emma Savitri, (2014), "Degradation of chitosan by sonication in very-low-concentration acetic acid", *Polymer Degradation and Stability*, Vol. 110, hal. 344-352.
- E.S.K., Tang dan M. Huang, L.Y., Lim, (2003), "Ultrasonication of chitosan and chitosan nanoparticles", *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 265, hal.103–114.
- Fang Feng, dkk, (2012), "Characterization of half N-acetylated chitosan powders and films", *Procedia Engineering*, Vol. 27, hal.718 – 732.
- Feng Tian, Yu Liu, Keao Hu, Binyuan Zhao, (2004), "Study of the depolymerization behavior of chitosan by hydrogen peroxide", *Carbohydrate Polymers*, Vol. 57 , hal. 31–37.
- Gareth, J., Price dan Paul, F., Smith, (1992), "Ultrasonic Degradation of Polymer Solutions: 2, The Effect of Temperature, Ultrasound Intensity and Dissolved Gases on Polystyrene in Toluene", *Polymer*, Vol. 34, No. 19.
- Gyliene, O., Razmunte, I., Tarozaitė, R., dan Nivinskiene, O., (2003), "Chemical Composition and Sorption Properties of chitosan Produced from Flylarva Shells, Chemija (Vilnius)", *T, 14 Nr*, Vol. 3, hal. 121-127.
- Huafei Xie, (2011), "Preparation of Low Molecular Weight Chitosan by Complex Enzymes Hydrolysis", *International Journal of Chemistry*, Vol. 3, No. 2, hal. 180-186.
- Humphrey Maris dan Sebastien Balibar, (2000), "Negative Pressures And Cavitation In Liquid Helium", *American Institute of Physics*, S-0031-9228-0002-020-2,

- H., Ueno, T., Mori, T., Fujinaga, (2001), "Topical Formulations And Wound Healing Applications Of Chitosan", *Adv, Drug Deliv*, Vol. 52, hal. 105–115.
- Jenq Sheng Chang, Ke Liang, B., dan Chang, Min Lang Tsai, (2007), "Liquid-Crystalline Behavior of Chitosan in Malic Acid", *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 105, hal.2670–2675.
- Kandasamy Thangavadivel, dkk, (2013), "Influence of sonochemical reactor diameter and liquid height on methyl orange degradation under 200 kHz indirect sonication", *Journal of Environmental Chemical Engineering*, Vol. 1, hal. 275–280.
- Khan, T.A., Peh, K.K., dan Chang, H.S., (2002), "Reporting Degree of Deacetylation Values of Chitosan; The Influence of Analytical Methods", *J. Pharm. Sci*, Vol. 5, No.3, hal. 205-212.
- Kondo, Y., Nakatani, A., Hayashi, K., dan Ito, M., (2000), "Low molecular weight chitosan prevents the progression of low dose streptozotocin-induced slowly progressive diabetes mellitus in mice", *Biological dan Pharmaceutical Bulletin*, Vol. 23, hal. 1458–1464.
- Kozo Ogawaa dan Toshifumi Yui, (2014), "Crystallinity of Partially N-Acetylated Chitosans", *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, Vol. 57, No. 9, hal. 1466-1469.
- Liu Hui, Jianguo Bao, Yu Min Du, Xuan Zhou, John, F., Kennedy, (2006), "Effect of Ultrasonic Treatment on The Biochemophysical Properties of Chitosan", *Carbohydrate Polymers*, Vol. 64, hal. 553-559.
- L.C., Hagenon dan L.K., Doraiswamy, (1997), "Comparison of the effects of ultrasound and mechanical agitation on a reacting solid-liquid system", *Chemical Engineering Science*, Vol. 53, No. 1, hal. 131-148.
- Mason, T.J dan Lorimer, J. P, (1989), "Sonochemistry: Theory, Applications and Uses of Ultrasound in Chemistry", *Wiley-Interscience*, New York.
- Mason, T.J., (1990), "Sonochemistry: The Uses of Ultrasound in Chemistry", *Royal Society of Chemistry*, Cambridge, England.
- Meidina, dkk, (1998), "Aktivitas Antibakteri Oligomer Kitosan yang Diproduksi Menggunakan Kitonase Dari Isolat B, Licheniformis Mb-2", IPB, Bogor.
- Millot, C., Mcbrien, J., Allen, S., dan Guibel, E., (1989), "Influence of Pschochemical and Structural Characteristic of Chitosan Falkes on Molybdate Sorption", *J. Applied. Polymer Science*, Vol. 68, hal. 571-580.
- Mourya, V., K.N.N, Inamdar, dan Y.M., Choudhari, (2011), "Chitooligosaccharides: Synthesis, Characterization and Applications", *Polymer Science. Ser. A*, Vol. 53, No. 7, hal. 583–612.
- M., Huang, E., Khor dan L.Y., Lim, (2004), *Pharm, Res*, Vol.21, hal. 344.
- Shen, F.H., (2005), *Elucidate The Possible Roles Of Chitosan In Anti-Tumorigenesis and its Realated Pathways*, Tesis.
- Pae HO, (2001), "Introduction of granulocytic differentiation in acute promyelocytic leukemia cells (HL-60) by water-soluble chitosan oligomer", *Leukimia Res*, Vol. 25, hal. 339-346.
- Preston, A., May dan Jeffrey, S.Moore., (2013), "Polymer mechanochemistry: techniques to generate molecular force via elongational flows", *The Royal Society of Chemistry*, DOI:10,1039/c2cs35463b.

- Retno, W., (2011), "Modifikasi Permukaan Polimer UHMWPE dan HDPE dengan Iradiasi Sinar Gamma untuk Meningkatkan Kekuatan Mekanik Tibial Tray", Skripsi, Bogor, Teknik Fisika- FMIPA-IPB,
- Rao, D.G., (1993), "Studies on viscosity-molecular weight relationship of chitosan solutions", *Journal of Food Science and Technology*, Vol. 30, No.1, hal. 66–67.
- Rhoades, J., Roller, S., (2000), "Antimicrobial Action of Degraded and Native Chitosan Against Spoilage Organism in Laboratory Media and Foods", *Appl, Environ, Microbiol*, Vol. 66, hal. 80-86.
- Rong Hwei Chen, dkk, (1997), "Effects of ultrasonic conditions and storage in acidic solutions on changes in molecular weight and polydispersity of treated chitosan", *Carbohydrate Research*, Vol. 299, hal. 287-294.
- Shao Jian, Yang, Y.M., Zhong, Q.Q., (2003), *Polym Degrad Stabil*, Vol. 82, No. 3, hal. 395–398.
- Shaojie Lu, Xuefeng Song, Deyong Cao, Yiping Chen, Kangde Yao, (2004), "Preparation of Water-Soluble Chitosan", *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 91, hal. 3497–3503.
- Sugita, P., (2009), "Kitosan: Sumber Biomaterial Masa Depan", IPB Press, Bogor.
- Suslick, Kenneth, S., (1989), "The Chemical Effects of Ultrasound", Scientific American.
- Tao Sun, dkk, (2006), "Preparation of chitosan oligomers and their antioxidant activity", *Springer-Verlag*, hal. 451-456
- Thomas Leong, Muthupandian Ashokkumar dan Sandra Kentish, (2011), "The Fundamentals Of Power Ultrasound–A Review", Vol. 39 August, No. 2, hal. 54-63.
- Tsao Ching Ting, Chih Hao Chang, Yu Yung Lin, (2011), "Kinetic Study of Acid Depolymerization of Chitosan dan Effects of Low Molecular Weight Chitosan on Erythrocyte Rouleaux Formation", *Carbohydrate Research*, Vol. 346, hal. 94-102.
- Vajnhdanl, S., Marechal, A.M.L., (2005), "Ultrasound in Textile Dyeing and The Decolourization / Mineralization of Textile Dyes", *Dyes Pigments*, Vol. 65, hal. 89–101.
- W, Wan Ngah, L., Teong, M., Hanafiah, (2011), "Adsorption of dyes and heavy metal ions by chitosan composites: a review", *Carbohydr, Polym*, Vol. 83, hal. 1446–1456.
- Yeon, J.C., Kim, E.J., Piao, Z., Yun, Y.C., Shin, Y.C., (2004), "Purification and Characterization of Chitosanase from *Bacillus* sp, Strain KCTC 0377BP dan its application for the production of chitosan oligosaccharides", *Appl. and Environ. Microbiol*, Vol. 70, hal. 4522-4531.
- Yongchun Huang, Yu Wu, Weichun Huang, Feng Yang, Xian' Ren, (2013), "Degradation of Chitosan by Hydrodynamic Cavitation", *Polymer Degradation and Stability*, Vol. 98, hal. 37-43.

## Biodata Penulis



**Nurul Laili Arifin**, lahir di Bangkalan, 04 Juni 1990. Anak pertama dari dua bersaudara pasangan Zainal Arifin dan Sartunut. Penulis menempuh pendidikan formal di SDN Demangan 1 (1996-2002), SMPN 2 Bangkalan (2002-2005), SMAN 2 Bangkalan (2005-2008), D4 Teknokimia Nuklir STTN-BATAN (2008-2012) dan S2 Teknik Kimia ITS (2012-2015). Selama mengerjakan tugas akhirnya di Laboratorium Teknologi Material Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS, penulis mendalami proses degradasi kitosan menjadi oligomer dengan metode sonikasi. Penelitian yang telah dilakukan antara lain Pengaruh Radiasi Gamma Terhadap Sifat Mekanik Uhmwpe Untuk Tibial Tray (2011) dan Pengaruh Sonikasi Bertahap dalam Proses Degradasi Kitosan terhadap Komposisi Dan Properti Produk (2013-2015).

Email : [nurullailiarifin@gmail.com](mailto:nurullailiarifin@gmail.com)