

Ind. J. Chem. Res., 2016, 3(2), 308-316

EXTRACTION AND CHARACTERIZATION OF CHITOSAN FROM WINDU SHRIMP SHELL (*Penaeus monodon*) AND DEPOLYMERIZATION CHITOSAN PROCESS WITH HYDROGEN PEROXIDE BASED ON HEATING TEMPERATURE VARIATIONS

Ekstraksi Dan Karakterisasi Kitosan Dari Kulit Udang Windu (*Penaeus monodon*) Serta Proses Depolimerisasi Kitosan Dengan Hidrogen Peroksida Berdasarkan Variasi Suhu Pemanasan

Matheis F.J.D.P. Tanasale^{1*}, Ivonne Telussa¹, Serly J. Sekewael¹, Loberth Kakerissa¹

Chemistry Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences
Pattimura University, Kampus Poka, Jl. Ir. M. Putuhena, Ambon 97134

*E-mail: mtanasale@fmipa.unpatti.ac.id

Received: Dec 2015 Published: Jan 2016

ABSTRACT

An extraction of chitin from shell of the tiger shrimp (*Penaeus monodon*), a conversion chitin into chitosan and depolymerization chitosan into oligochitosan using hydrogen peroxide based on variations in heating temperature have been done. Chitosan had depolymerized and its molecular weight had tested by end group analysis method and its degree of deacetylation had tested by UV-Vis spectrophotometry method. Oligochitosan had obtained from the conversion of chitin is isolated from the shell of tiger shrimp and from commercial chitin. The content of chitin obtained in tiger shrimp shells was 35.90% while the result of the conversion of commercial chitin into chitosan amounted to 62.33%. Characterization of functional groups using FTIR spectrophotometry showed that the conversion of chitosan from chitin commercial have absorption bands of 3617.56 (OH), 3050.47 - 3127.63 (-NH stretching), 2894.24 (-CH methylene), 1679.06 (-C = O), 1564.30 (-NH bending), and 1076.30 cm^{-1} (-CO-). The commercial chitosan which is characterized by FTIR spectrophotometric method also supports the results of the conversion of chitosan from chitin commercial. In the process of depolymerization of chitosan by hydrogen peroxide was found that the greater heating temperature was used, the smaller the percent yield and molecular weight of oligochitosan were at 40 °C, 50 °C, 60 °C and 70 °C gained weight average molecular oligochitosan were 1030.12 g/mol, 1019, 28 g/mol, 978.12 g/mol, and 908.82 g/mol, respectively.

Keywords: Chitosan, depolymerization, heating temperature, hydrogen peroxide, oligochitosan

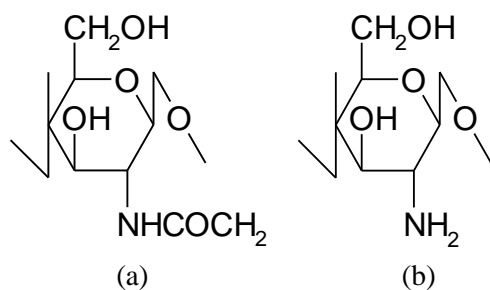
PENDAHULUAN

Kitin merupakan polimer alami (biopolimer) yang terbesar setelah selulosa, banyak terkandung pada limbah hasil laut, khususnya golongan udang, kepiting, ketam, dan kerang (Muzzarelli *et al.*, 2012). Selain itu, kitin juga ada di dalam dinding sel cendawan dan kutikula golongan serangga (Austin *et al.*, 1981). Kitosan merupakan produk deasetilasi kitin melalui reaksi kimia ataupun biokimia dengan menggunakan enzim kitin deasetilase yang telah berhasil dimurnikan dan dikarakterisasi dari beberapa cendawan (Rukayadi, 2002). Struktur kitin dan kitosan terdiri dari *N*-asetil glukosamin dan glukosamin (Gambar 1) yang terikat dengan ikatan $\beta(1,4)$ glikosida. Kitosan mempunyai

kelarutan baik dalam asam-asamorganik encer sedangkan kitin tidak larut dalam air dan kebanyakan pelarut organik tetapi larut dalam asam mineral pekat seperti HCl, HNO₃, H₂SO₄, H₃PO₄, dan asam format anhidrat. Terkait dengan kelarutan tersebut maka kitosan menjadi lebih menarik dan mempunyai aplikasi yang lebih luas daripada kitin (Kumar, 2000).

Pemanfaatan kitosan masih kurang optimal karena panjangnya rantai kitosan yang mengakibatkannya sulit larut dalam air. Pada hal kelarutan merupakan karakteristik penting untuk kitosan. Peningkatan kelarutan akan memfasilitasi kitosan untuk dapat digunakan lebih luas pada bidang pangan, pertanian, farmasi, maupun aplikasi teknik lainnya. Bobot

molekul tinggi mengakibatkan kelarutan kitosan rendah dalam air. Hal ini memicuh dikembangkannya beberapa usaha dalam memotong ikatan kitosan menjadi oligomer yang lebih pendek yang disebut oligokitosan.



Gambar 1. Struktur unit ulang (a) kitin dan (b) kitosan

Oligokitosan dapat dihasilkan dari proses depolimerisasi kitosan secara biokimia dengan menggunakan enzim (Qin *et al.*, 2006) atau secara kimia dengan menggunakan asam seperti HCl, H₂SO₄, dan CH₃COOH (Kabal'nova *et al.*, 2001; Varum *et al.*, 1991; No *et al.*, 2003). Selain itu, proses depolimerisasi kitosan juga dapat menggunakan oksidator seperti O₃, NaNO₂, dan H₂O₂ (Allan & Peyron, 1995; Chang *et al.*, 2001; Tanioka *et al.*, 1996; Qin *et al.*, 2002; Tian *et al.*, 2004; Mao *et al.*, 2004; Srijanto *et al.*, 2006). Bahkan pada akhir-akhir ini telah digunakan natrium hipoklorit (NaClO) untuk menghasilkan kitosan dengan bobot molekul yang lebih rendah atau oligokitosan (Zheng *et al.*, 2015). Akan tetapi, hidrogen peroksida lebih banyak digunakan karena mudah ditangani, mudah didapat, dan lebih ramah lingkungan (Qin *et al.*, 2002). Bahkan untuk mendapatkan oligokitosan yang lebih efektif dan efisien, beberapa peneliti telah mengkombinasikan hidrogen peroksida dengan menggunakan iradiasi microwave (Shao *et al.*, 2003), radiasi sinar gamma (Kang *et al.*, 2007), cahaya ultraviolet (Wang *et al.*, 2005), ultraviolet-teradiasi oksigen (Yue *et al.*, 2009), dan asam heteropoli (Huang *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2008).

Depolimerisasi kitosan menggunakan hidrogen peroksida (H₂O₂) telah banyak dipelajari sesuai dengan kemudahan penggunaan dan ketersediannya serta ramah lingkungan karena tidak meninggalkan residu yang berbahaya. Laju depolimerisasi kitosan

menggunakan H₂O₂ lebih kecil karena kestabilan H₂O₂. Depolimerisasi kitosan menggunakan H₂O₂ menyebabkan pembentukan gugus-gugus karboksil dan mempercepat deaminasi (Qin dkk., 2002). Bobot molekul yang dihasilkan dalam proses depolimerisasi kitosan sangat dipengaruhi oleh suhu, waktu dan konsentrasi H₂O₂. Pada penelitian ini kitosan yang diekstrak dari kulit udang windu divariasikan suhu pemanasan proses depolimerisasi kitosan menggunakan hidrogen peroksida sehingga menghasilkan oligokitosan dengan berbagai bobot molekul.

METODOLOGI

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel limbah udang windu (*Penaeus monodon*), kitin, kitosan, HCl, NaOH, aseton, NaOCl, CH₃COOH, H₂O₂, D-glukosamina hidroklorida, kalium ferrisianida, natrium karbonat, kertas saring whatman No. 40, dan aquades.

Alat

Peralatan dan instrumen yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah : neraca analitik, centrifuge, oven, spektrofotometer UV-visible, spektrofotometer FTIR, pengaduk magnetik, dan peralatan-peralatan gelas.

Prosedur Kerja

Ekstraksi kitin dari limbah udang berdasarkan metode No *et al.* (1989).

Sebanyak 200 g limbah udang windu kering dimasukkan dalam erlenmeyer ditambahkan NaOH 3,5% dengan perbandingan 1 : 10 (b/v) dan dipanaskan dengan *hotplate* pada suhu 65°C selama 2 jam kemudian didinginkan dan disaring dengan kertas saring Whatman. Residu yang dihasilkan dicuci sampai pH netral kemudian dikeringkan di dalam oven pada 60°C selama 4 jam. Selanjutnya residu ditambahkan HCl 1N dengan perbandingan 1 : 15 (b/v) pada suhu kamar dan dibiarkan selama 30 menit, disaring, dicuci sampai pH netral, dan dikeringkan pada 60°C selama 4 jam. Kemudian residu tersebut ditambahkan dengan aseton secukupnya, disaring, ditambahkan dengan NaOCl 0,315% dengan perbandingan 1 : 10 (b/v) pada suhu kamar selama 30 menit, disaring, dicuci sampai

pH netral, dan dikeringkan. Residu berupa kitin dianalisis dengan spektrofotometer FTIR.

Konversi kitin menjadi kitosan berdasarkan metode No dan Meyer (1997).

Sebanyak 30 g serbuk kitin dicampurkan dengan 300 mL larutan NaOH 50%, kemudian dipanaskan pada 100°C selama 6 jam. Selanjutnya campuran disaring dengan kertas saring Whatman 40. Residu kitosan dikeringkan dalam oven sampai bobotnya konstan. Residu kitosan dikarakterisasi dengan metode spektrofotometri FTIR dan ditentukan bobot molekul dengan metode viskometri. Untuk membandingkan hasil deasetilasi digunakan kitin komersil yang memiliki kemurnian yang tinggi.

Preparasi oligokitosan dengan proses depolimerisasi kitosan dengan H₂O₂.

Kitosan hasil deasetilasi kitin dari isolasi limbah kulit udang windu sebanyak 2,0 g dimasukkan ke dalam erlemeyer, kemudian ditambahkan 50 mL H₂O₂ 10%. Setelah itu dibiarkan selama 10 menit dan dipanaskan dengan variasi suhu pada 40 °C, 50 °C, 60 °C dan 70 °C yang masing-masing selama 4 jam. Hasil reaksi kemudian didinginkan pada suhu kamar kemudian disaring. Residu yang dihasilkan dicuci dengan aquades sampai pH netral dan dikeringkan pada suhu 60 °C. Proses ini dilakukan secara duplo. Hasil depolimerisasi kitosan yang diperoleh selanjutnya diuji gugus fungsinya menggunakan spektrofotometer FTIR dan ditentukan bobot molekul dengan metode analisis gugus ujung.

Penentuan bobot molekul kitosan.

Dilarutkan 0,1 g kitosan hasil isolasi dalam 100 mL HCl 0,01 M dan selanjutnya dibuat larutan viskositas masing-masing 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4%; dan 0,5%. Setelah itu ukur waktu alirnya dengan menggunakan viskometer Ostwald. Viskositas larutan digunakan untuk menentukan bobot molekul polimer kitosan dengan bantuan persamaan viskositas spesifik, viskositas intrinsik (Persamaan 1) dan persamaan empirik Mark- Houwink (Persamaan 2).

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{c} \dots (1)$$

$$[\eta] = kM^a \dots (2)$$

dengan η_{sp} adalah viskositas spesifik, c adalah konsentrasi polimer (dalam g/100 mL), a dan k adalah konstanta untuk pelarut polimer, M adalah massa molekul, serta $[\eta]$ adalah viskositas intrinsik.

Penentuan bobot molekul oligokitosan dengan metode analisis gugus ujung (Shao, et al., 2003).

Pereaksi warna disiapkan dengan melarutkan 0,5 g kalium ferrisianida dalam 1 L natrium karbonat 0,5 M dan disimpan dalam botol pereaksi berwarna coklat. Larutan standar D-glukosamin hidroklorida (GAH) disiapkan dengan melarutkan 1,00 g GAH dalam 100 mL akuades. Pembuatan kurva standar dilakukan dengan mencampurkan beberapa volume berbeda larutan standar GAH dengan 2 mL pereaksi warna dalam tabung tertutup, kemudian tepatkan volumenya menjadi 5 mL dengan akuades. Tabung ditutup, dipanaskan pada air mendidih selama 15 menit, dan didinginkan pada suhu ruang. Selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 420 nm. Untuk sampel oligokitosan dilakukan dengan menimbang sejumlah massa sampel oligokitosan, kemudian dilarutkan dengan akuades, ditambahkan 2 mL pereaksi warna, ditepatkan volumenya menjadi 5 mL, dipanaskan pada air mendidih selama 15 menit, didinginkan, dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 420 nm. Bobot molekul rata-rata jumlah (\overline{M}_n) dihitung berdasarkan Persamaan (3).

$$\overline{M}_n = \frac{W_1}{W_2} \times 215,5 \dots (3)$$

dengan W_1 adalah bobot oligoglukosamina (g) dan W_2 adalah jumlah GAH yang setara dengan absorbansi oligoglukosamina yang berasal dari kurva standar.

Penentuan derajat deasetilasi oligokitosan dengan metode spektrofotometri UV-Vis (Liu, et al. (2006)).

Sebanyak 3 mg kitosan yang dihasilkan dilarutkan ke dalam 50 mL HCl 0,1 M, diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 201 nm. Derajat deasetilasinya dihitung berdasarkan Persamaan 4 dan 5:

$$DA = \frac{161,1AV - 0,0128M}{3,3615M - 42,1AV} \dots (4)$$

$$DD = (1 - DA)100\% \dots (5)$$

dengan A adalah absorbans, V adalah volume larutan dan M adalah bobot kitosan. Cara yang sama juga dilakukan terhadap kitosan komersil.

HASIL DAN PEMBAHASAN

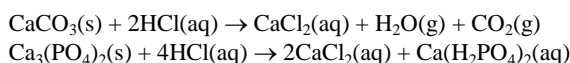
Ekstraksi kitin dari limbah udang

Kulit udang windu banyak mengandung kitin tetapi juga masih mengandung protein, mineral, dan zat warna. Setelah dipisahkan dari daging, kulit udang memerlukan tiga tahap proses kimia agar diperoleh kitin. Ketiga tahap tersebut adalah tahap deproteinisasi, tahap demineralisasi, dan tahap depigmentasi. Setiap tahap-tahap tersebut memerlukan kondisi-kondisi optimum yang tergantung dari bahan dasar dan jenis bahan dasar. Dari studi literatur yang dilakukan, metode ekstraksi kitin dari limbah udang yang dilaporkan oleh No *et al.* (1989) adalah yang terbaik. Hasil penelitian tentang massa dan komposisi zat kimia dalam kulit udang windu dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Bobot dan komposisi zat kimia dalam kulit udang windu

| Zat | Bobot (g) | Kadar (%) |
|-----------|-----------|-----------|
| Protein | 4,16 | 4,16 |
| Mineral | 60,00 | 60,00 |
| Zat warna | 1,10 | 1,10 |
| Kitin | 34,71 | 34,71 |

Protein akan larut dalam suasana basa sehingga selisih antara bobot sampel dengan bobot setelah tahap deproteinasi merupakan kadar protein yang ada dalam kulit udang windu. Demikian juga pada selisih bobot antara sebelum dan setelah tahap demineralisasi merupakan bobot mineral. Mineral utama yang ada pada kulit udang windu adalah CaCO₃ dan sedikit Ca₃(PO₄)₂ yang larut dalam suasana asam klorida menurut reaksi :



Proses demineralisasi ditandai dengan terbentuknya gas CO₂, sedangkan kadar zat

warna diperoleh setelah tahap depigmentasi karena zat warna pada kulit udang windu larut dalam aseton. Proses depigmentasi tidak memberikan hasil yang memuaskan karena warna residu yang dihasilkan masih putih kecoklatan.

Jika dibandingkan dengan hasil-hasil penelitian yang lainnya (khususnya dari jenis krustasea), hasil penelitian ini memiliki perbedaan yang cukup signifikan. Perbandingan hasil-hasil tersebut dapat dilihat pada Tabel 2. Perbedaan ini dapat disebabkan karena berbedanya jenis hewan dan habitat hidup. Udang windu pada penelitian ini merupakan hasil budi daya di pertambakan udang Desa Arara (Maluku Tengah) sedangkan penelitian yang lain berasal dari pasar lokal yang tidak jelas habitat hidupnya.

Tabel 2. Perbandingan kandungan zat kimia pada kulit hewan krustasea

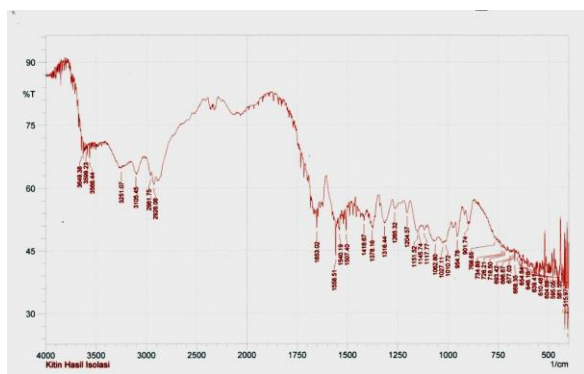
| Zat | Komposisi zat kimia (%) | | |
|-----------|--------------------------|--------------------------------|----------------|
| | Udang Windu ^a | Kepiting Rajungan ^b | Penelitian ini |
| Protein | 25,10 | 43,38 | 4,16 |
| Mineral | 26,45 | 2,71 | 60,00 |
| Zat warna | 14,84 | 3,70 | 1,10 |
| Kitin | 33,61 | 50,21 | 35,80 |

Sumber: a. Tanasale dkk (2006); b. Tanasale dkk (2012)

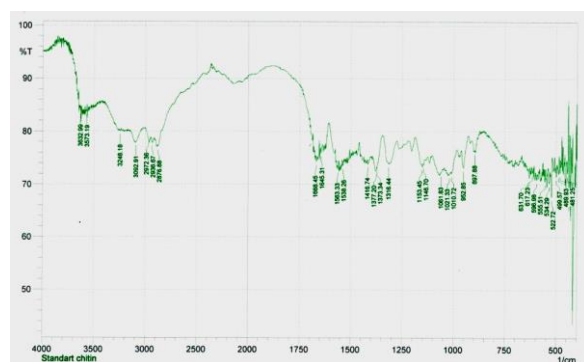
Untuk membuktikan adanya kitin dalam sampel kulit udang windu maka dilakukan pengujian dengan menggunakan spektrofotometer FTIR sehingga terlihat pita-pita yang khas dari senyawa kitin seperti yang diperlihatkan pada Gambar 2. Spektrum FTIR kitin hasil isolasi memiliki pita-pita serapan yang khas yaitu pita yang muncul pada 3566,44 cm⁻¹ (lebar) adalah pita serapan -OH, 1653,02 cm⁻¹ adalah pita serapan vibrasi ulur (*stretching*) C=O, dan 1558,51 cm⁻¹ adalah pita serapan vibrasi tekuk (*bending*) -N-H yang merupakan ciri khas dari kitin yaitu gugus fungsi -N-H dalam -NH-CO- (gugus amin yang terasetilasi). Jika dibandingkan dengan spektra FTIR untuk kitin komersil (Gambar 2), maka dapat disimpulkan bahwa hasil isolasi yang diperoleh merupakan senyawa kitin. Hasil ini juga didukung penelitian sebelumnya, seperti yang telah dilaporkan oleh Tanasale dkk (2006).

Konversi kitin menjadi kitosan

Kitosan merupakan produk deasetilasi dari kitin dengan NaOH pekat panas. No dan Meyers (1997) menyatakan bahwa konsentrasi NaOH yang digunakan untuk deasetilasi antara 40–50% pada suhu 80–150°C. Kondisi ini digunakan karena struktur sel-sel kitin tebal dan kuatnya ikatan hidrogen intramolekul antara atom hidrogen pada gugus amin dan atom oksigen pada gugus karbonil.



Gambar 2. Spektrum FTIR kitin hasil isolasi



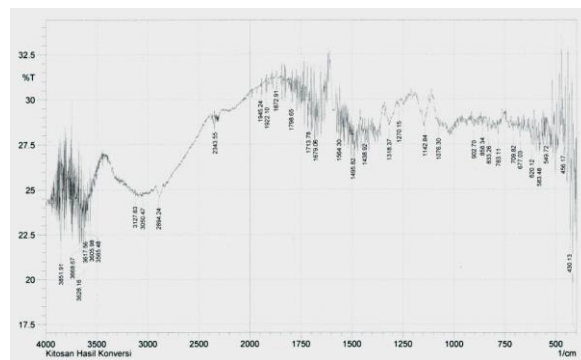
Gambar 3. Spektrum FTIR kitin komersil

Proses deasetilasi dalam basa kuat panas menyebabkan hilangnya gugus asetil pada kitin melalui pemutusan ikatan antara karbon pada gugus asetil dengan nitrogen pada gugus amin.

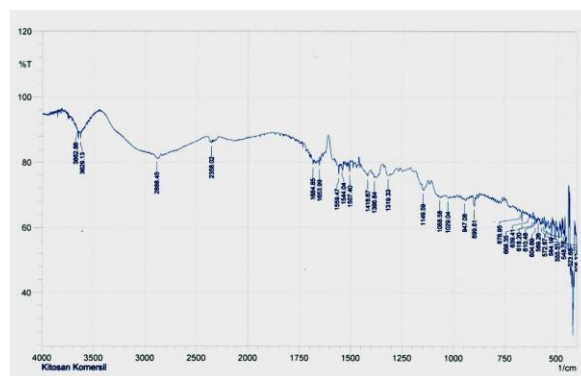
Hasil konversi kitin komersil menjadi kitosan adalah sebesar sekitar 62,33%. Hasil ini jauh melebihi kitosan yang diperoleh dari kitin hasil isolasi dari kulit jenis krustasea yang masing-masing hanya 19,07% (udang windu (Tanasale dkk (2006)) dan 22,06% (kepiting rajungan (Tanasale dkk (2012))). Perbedaan ini disebabkan karena kitin komersil memiliki kemurnian yang tinggi sehingga kandungan kitosan juga tinggi. Ini juga menunjukkan bahwa hasil isolasi yang dilakukan masih

mengandung zat-zat yang akan larut dalam larutan basa kuat panas.

Selanjutnya kitosan hasil konversi dikarakterisasi dengan menggunakan metode spektrofotometri FTIR yang hasil spektrumnya dapat dilihat pada Gambar 4. Spektrum kitosan hasil konversi dari kitin komersil memiliki pita-pita serapan khas yaitu 3617,56 (-OH), 3050,47 – 3127,63 (-N-H ulur), 2894,24 (-C-H metilen), 1679,06 (-C=O), 1564,30 (-N-H tekuk), dan 1076,30 cm⁻¹ (-C-O-). Walaupun terlihat adanya *noise* yang mungkin disebabkan karena masih adanya NaOH akibat proses pencucian yang kurang sempurna, hasil ini memiliki kemiripan dengan spektrum FTIR kitosan komersil yang diperlihatkan pada Gambar 5. Spektrum kitosan komersil memiliki pita-pita serapan khas yaitu 3629,13 (-OH), 2888,45 (-C-H metilen), 1653,99 (-C=O), 1559,47 (-N-H *bending*), dan 1068,58 cm⁻¹ (-C-O-).



Gambar 4. Spektrum FTIR kitosan hasil konversi dari kitin komersil.



Gambar 5. Spektrum FTIR kitosan komersil

Derajat deasetilasi dan bobot molekul kitosan

Derajat deasetilasi adalah suatu parameter mutu kitosan yang menunjukkan persentasi gugus asetil yang dapat dihilangkan dari rendamen kitin maupun kitosan. Semakin tinggi

derajat deasetilasi kitosan, maka gugus asetil kitosan semakin rendah sehingga interaksi antar ion dan ikatan hidrogennya akan semakin kuat (Knoor, 1982).

Pengukuran derajat deasetilasi menggunakan metode UV-Vis pada Persamaan 4 dan 5. Penentuan derajat deasetilasi dengan metode UV-Vis lebih efektif dan memiliki tingkat ketelitian yang tinggi sehingga hasilnya lebih akurat karena menggunakan instrumen yang memiliki tingkat ketelitian yang tinggi. Derajat deasetilasi dihitung untuk mengetahui besarnya gugus asetil yang hilang dari kitin sehingga berubah menjadi kitosan. Derajat deasetilasi yang diperoleh sebesar 93,71%. Berdasarkan standar protein biopolimer (1994) maka produk kitosan tersebut telah memenuhi kriteria standar mutu ($\geq 70\%$). Menurut Aumelia dkk (2005), suhu dan waktu pemanasan dalam NaOH menentukan derajat deasetilasi dan semakin tinggi suhu dan waktu pemanasan maka derajat deasetilasi semakin tinggi.

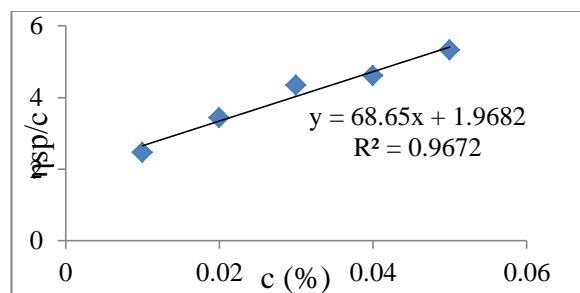
Penentuan bobot molekul ditentukan dengan menggunakan viskositas Ostwald untuk mengukur viskositas larutan polimer. Adapun beberapa parameter viskositas larutan polimer terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Parameter viskositas untuk penentuan berat molekul kitosan

| c (%) | t (detik) | t/t_0 | η_{sp} | η_{sp}/c |
|------------|----------------|-------------|-------------|---------------|
| 0 | 80,35 | 1 | 0 | ∞ |
| 0,01 | 82,33 | 1,02464219 | 0,02464219 | 2,464219042 |
| 0,02 | 85,86 | 1,068574984 | 0,068574984 | 3,428749222 |
| 0,03 | 90,80 | 1,130056005 | 0,130056005 | 4,335200166 |
| 0,04 | 95,13 | 1,18394524 | 0,18394524 | 4,598630989 |
| 0,05 | 101,69 | 1,265588052 | 0,26558805 | 5,311761045 |

Dari Tabel 3 dapat dibuat kurva yang menggambarkan hubungan antara viskositas reduksi terhadap konsentrasi seperti terlihat pada Gambar 6. Penentuan bobot molekul kitosan ditentukan berdasarkan viskositas intrinsik menurut Persamaan 1 dan 2. Viskositas intrinsik menunjukkan kemampuan polimer untuk meningkatkan viskositas larutan. Viskositas intrinsik diperoleh dari kurva η_{sp}/c yang diekstrapolasi hingga c mendekati 0, agar dapat meniadakan pengaruh konsentrasi. Dari hasil perhitungan diperoleh bobot molekul kitosan sebesar $8,67 \times 10^4$ g/mol. Jika dibandingkan

dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Kilikily (2009) dengan sampel yang sama yaitu udang windu, bobot molekul untuk kitosan hasil isolasi selama 2 jam lama pemanasan pada proses deasetilasi, diperoleh bobot molekul sebesar 9×10^6 g/mol dengan derajat deasetilasi 76%. Perbedaan ini dikarenakan kecilnya nilai derajat deasetilasi yang berpengaruh pada makin bertambahnya bobot molekul kitosan.



Gambar 6. Kurva hubungan antara η_{sp}/C vs C

Depolimerisasi kitosan menghasilkan oligokitosan

Kitosan dapat didegradasi atau diputuskan melalui hidrolisis, degradasi oksidatif (depolimerisasi) dan pirolisis. Pemutusan ikatan glikosidik adalah tahap utama dalam proses depolimerisasi. Pada umumnya, degradasi didasarkan pada konsentrasi reaktan dan suhu, tingkat kemurnian, derajat deasetilasi dan bobot molekul kitosan (Makuuchi, 2008).

Pada penelitian ini, kitosan didepolimerisasi menggunakan H_2O_2 10 % pada variasi suhu $40^\circ C$, $50^\circ C$, $60^\circ C$ dan $70^\circ C$ secara duplo. Kitosan dilarutkan sempurna dalam H_2O_2 selama 10 menit sebelum dimasukkan ke dalam oven supaya terjadinya pembentukan gugus-gugus karboksil dan mempercepat deaminasi. Perlakuan dengan H_2O_2 dapat mengubah struktur zat penyebab warna. Hal ini terlihat dari residu yang diperoleh berupa kristal padatan yang berwarna putih. Bobot oligokitosan rata-rata hasil depolimerisasi kitosan dengan variasi suhu terlihat pada Tabel 4.

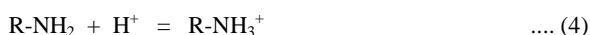
Dari hasil yang diperoleh, terlihat bahwa suhu proses depolimerisasi kitosan berpengaruh terhadap bobot oligokitosan yang diperoleh yakni kenaikan suhu akan menurunkan bobot oligokitosan yang dihasilkan. Tian *et al.* (2004) telah menjelaskan mekanisme depolimerisasi kitosan dengan H_2O_2 yang diawali dengan suatu

sistem kesetimbangan pada Persamaaa (4) dan (5) serta reaksi total seperti Persamaan (6).

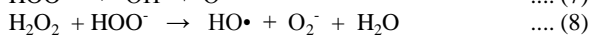
Tabel 4. Bobot oligokitosan rata-rata hasil depolimerisasi kitosan dengan H₂O₂ pada variasi suhu 40 °C, 50 °C, 60 °C dan 70 °C

| Oligokitosan | W _o (g) | W (g) | Persen (%) |
|-----------------|--------------------|-------|------------|
| OK _A | 2,00055 | 1,611 | 80,52 |
| OK _B | 2,00055 | 1,595 | 79,73 |
| OK _C | 2,00055 | 1,521 | 76,03 |
| OK _D | 2,00055 | 1,265 | 63,23 |

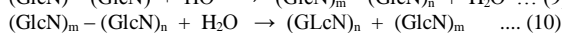
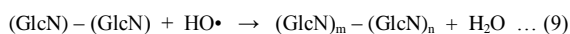
Ket:
 OK = Oligokitosan hasil depolimerisasi kitosan dengan H₂O₂ pada variasi suhu (A= 40°C, B= 50°C, C= 60°C dan D= 70°C)
 W_o = Bobot kitosan sebelum depolimerisasi
 W = Bobot oligokitosan yang dihasilkan



Anion HOO⁻ sangat tidak stabil dan sangat mudah terdekomposisi menjadi radikal hidroksil yang sangat reaktif (Persamaan 7 dan 8).



Radikal hidroksil adalah oksidator kuat. Aksi kimia utama HO• dengan suatu polisakarida adalah sangat cepat seperti diperlihatkan pada Persamaan (9) dan (10). Radikal HO• menarik satu atom H dan membentuk air sehingga akan membentuk produk oksidasi larut air dengan bobot molekul rendah.



Pengaruh suhu depolimerisasi terhadap bobot molekul oligokitosan

Bobot molekul oligokitosan dilakukan dengan metode UV-Vis dengan kalium ferisianida sebagai reagen warna. Hal ini disebabkan karena D-glukosamin hidroklorida dan oligokitosan memiliki hemiasetal hidroksil dalam molekulnya sehingga keduanya akan berwarna bila ditambahkan kalium ferisianida. Hemiasetal hidroksil pada gula reduksi dapat berwarna bila direaksikan dengan kalium ferisianida. Bobot molekul oligokitosan tidak dapat ditentukan dengan metode viskometri seperti pada bobot molekul kitosan karena dalam

metode viskometri, hasil yang akurat hanya bila bobot molekulnya 10⁴ g/mol sedangkan oligokitosan sendiri memiliki bobot molekul sekitar 2x10³ g/mol.

Dari hasil penelitian diperoleh bobot molekul oligokitosan berdasarkan variasi suhu pemanasan dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 5 menjelaskan bahwa kenaikan suhu akan menurunkan bobot molekul oligokitosan. Menurut Makuuchi (2008) bobot molekul menurun dipengaruhi oleh suhu, waktu, dan konsentrasi H₂O₂ yang meningkat. Suhu yang meningkat akan mempercepat proses depolimerisasi rantai utama kitosan sehingga bobot molekul oligokitosan yang dihasilkan menurun. Jika dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Sriyanto dkk (2006) dengan variasi suhu 60 °C, 70 °C, 80 °C dan 90 °C, dan variasi waktu 10 menit, 15 menit dan 20 menit, bobot molekul oligokitosan yang diperoleh sebesar 5000 g/mol - 12000 g/mol dengan bobot molekul kitosan sebesar 1,14 x 10⁶ g/mol - 1,79 x 10⁶ g/mol. Perbedaan ini disebabkan karena pereaksi yang digunakan berbeda yaitu HNO₂ dan HNO₃ merupakan oksidator yang lebih lemah dibandingkan dengan H₂O₂. Laju depolimerisasi kitosan menggunakan H₂O₂ lebih kecil, ini disebabkan kestabilan H₂O₂.

Tabel 5. Bobot molekul (BM) oligokitosan rata-rata hasil depolimerisasi kitosan dengan beberapa perlakuan suhu

| Oligokitosan | Absorbansi rata-rata | W ₁ (g) | W ₂ (g) | BM (g/mol) |
|-----------------|----------------------|--------------------|--------------------|------------|
| OK _A | 0,399 | 0,02 | 0,004184 | 1030,13 |
| OK _B | 0,403 | 0,02 | 0,0042285 | 1019,29 |
| OK _C | 0,422 | 0,02 | 0,0044065 | 978,12 |
| OK _D | 0,455 | 0,02 | 0,0047425 | 908,82 |

Ket:
 OK = Oligokitosan hasil depolimerisasi kitosan dengan H₂O₂ pada variasi suhu (A= 40°C, B= 50°C, C= 60°C dan D= 70°C)
 W₁ = Bobot oligokitosan yang ditimbang untuk pembuatan larutan untuk pengukuran UV-Vis
 W₂ = Bobot oligokitosan berdasarkan hasil regresi larutan standar.
 BM = Bobot molekul oligokitosan

Pada suhu 40 °C, 50 °C, 60 °C, dan 70 °C terlihat bahwa penurunan bobot molekul sangat signifikan. Hal ini dimungkinkan pada suhu tinggi terjadi penurunan deprotonisasi dari -NH₃⁺, yang membantu mempercepat pemutusan rantai utama kitosan secara depolimerisasi. Karena pada proses depolimerisasi ini bersifat

acak maka pada suhu tinggi yaitu pada suhu 70 °C dan adanya proton NH_3^+ , energi yang diberikan kepada sistem cenderung dapat memutuskan ikatan glikosidik dari rantai-rantai pendek kitosan dibandingkan rantai-rantai utama yang panjang membentuk kitosan dengan bobot molekul kecil yang terlarut dalam cairan.

Bobot molekul oligokitosan yang dihasilkan, jauh lebih kecil dari bobot molekul kitosan yang sebesar $8,67 \times 10^4$ g/mol. Pemutusan ikatan β -glikosidik pada proses depolimerisasi diperoleh ukuran molekul yang lebih kecil sehingga bobot molekul pun semakin kecil. Bobot molekul monomer kitosan adalah 161 g/mol. Dalam penelitian ini, monomer kitosan pada oligokitosan terdiri dari 5-6 unit monomer, dan jika dibandingkan dengan monomer kitosan dalam kitosan isolasi adalah 538 unit monomer kitosan. Berdasarkan jumlah monomer yang diperoleh, diperkirakan bahwa kitosan tersebut telah mengalami depolimerisasi sehingga membentuk oligokitosan. Hal ini diperkuat dengan data yang diperoleh dari bobot oligokitosan rata-rata pada proses depolimerisasi kitosan disertai penurunan bobot molekul dan ukuran molekul yang kecil. Jadi, semakin tinggi suhu pemanasan maka bobot molekul oligokitosan yang dihasilkan akan semakin kecil.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa kandungan kimia dalam kulit udang windu adalah protein 4,16%, mineral 60,00%, zat warna 1,10%, dan kitin 35,90%. Konversi kitin komersil menjadi kitosan komersil mencapai 62,33%. Kitosan hasil konversi dari kitin komersil memiliki pita-pita serapan khas yaitu 3617,56 (-OH), 3050,47 – 3127,63 (-N-H stretching), 2894,24 (-C-H metilen), 1679,06 (-C=O), 1564,30 (-N-H bending), dan 1076,30 cm^{-1} (-C-O-). Makin besar suhu pemanasan yang digunakan dalam proses depolimerisasi kitosan dengan hidrogen peroksida maka makin kecil persen hasil dan bobot molekul oligokitosan yang dihasilkan yakni pada 40 °C, 50 °C, 60 °C, dan 70 °C diperoleh bobot molekul rata-rata oligokitosan berturut-turut sebesar 1030,12 g/mol, 1019,28 g/mol, 978,12 g/mol, dan 908,82 g/mol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Lembaga Penelitian Universitas Pattimura Ambon dan Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi atas disetujui dan didanainya penelitian ini sesuai dengan surat perjanjian pelaksanaan pekerjaan penelitian Hibah Bersaing tahun anggaran 2015, nomor : 30/UN13.2/SPK-PJ/LP-HB/2015 tanggal 28 Agustus 2015.

DAFTAR PUSTAKA

- Aulia, F, Khusnul, A., Andrew, S, dan Nurinci, D, 2013, *Makalah Ikan Kakap Merah*. Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Allan, G.G. & Peyron, M. 1995. Molecular weight manipulation of chitosan I: kinetics of depolymerization by nitrous acid. *Carbohydrate Research*, 277, 257–272.
- Aumelia, W., Basmal, J., dan Suryaningrum., 2005, Pengaruh konsentrasi asam monokloroasetat dan jenis pelarut sebagai bahan pengendap terhadap produksi karboksimetil kitin, *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 11(4): 89–100.
- Austin, P.R., Brine, C.J., Castle, J.E., & Zikakis, J.P. 1981. Chitin: new facets of research. *Science*, 212, 749–753.
- Chang, K.L.B., Tai, M.C., & Xiao, L. 2001. Kinetics and products of degradation of chitosan by hydrogen peroxide. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 4845–4851.
- Huang, Q.Z., Wang, S.M., Huang, J.F., Zhou, L.H., & Guo Y.C. 2007. Study on the heterogeneous degradation of chitosan with hydrogen peroxide under the catalysis of phosphotungstic. *Carbohydrate Polymers*, 68, 761–765.
- Huang, Q.Z., Zhuo, L.H., & Guo, Y.C. 2008. Heterogeneous degradation with H_2O_2 catalysed by phosphotungstate. *Carbohydrate Polymers*, 72, 500–505.
- Kabal'nova, N.N., Murinov, K.Y., Mullagaliev, I.R., Krasnogorskaya, N.N., Shereshevets, V.V., Monakov, V.B., & Zaikov, G.E. 2001. Oxidative destruction of chitosan under the effect of ozone and hydrogen peroxide. *J. Appl. Polym. Sci.*, 81, 875–881.
- Kang, B., Dai, Y.D., Zhang, H.Q., & Chen, D. 2007. Synergetic degradation of chitosan

- with gamma radiation and hydrogen peroxide. *Polym. Degrad. Stab.*, 92, 359–362.
- Kilikily, K., 2009, Variasi waktu pemanasan pada proses deasetilasi kitin, *Skripsi Sarjana*, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pattimura, Ambon.
- Knorr, D., 1982, Function properties of chitin and chitosan, *J.Food.Sci.*, 47: 36.
- Kumar, M.N.V.R. 2000. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive & Functional Polymers*, 46, 1–27.
- Liu, D., Wei, Y., Yao, P., Y. & Jiang, L. 2006b Determination of the degree of acetylation of chitosan by UV spectrophotometry using dual standards. *Carbohydrate Research*, 341, 782–785.
- Makuuchi, K., 2008, Comparative analysis of hydrogel and Oligo-Chitosan, EB System Comporation, Japan, 1–6.
- Mao, S., Shui, X., Unger, F., Simon, M., Bi, D., & Kissel, T. 2004. The polymerization of chitosan: effects on physicochemical and biological properties. *Inter. J. Pharm.*, 281, 45–54.
- Muzzarelli, R.A.A., Boudrant, J., Meyer, D., Manno, N., DeMarchis, M., & Paoletti, M.G. 2012. Current views on fungal chitin/chitosan, human chitinases, food preservation, glucans, pectins and inulin: a tribute to Henri Braconnot, precursor of the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial. *Carbohydrate Polymers*, 87, 995–1012.
- No, H.K., Nah, J.W., & Meyers, S.P. 2003. Effect of time/temperature treatment parameters on depolymerization of chitosan. *J. Appl. Polym. Sci.*, 87, 1890–1894.
- No, H.K. & Meyers, S.P. 1997. Preparation of chitin and chitosan. *Dalam* R.A.A. Muzzarelli dan M.G. Peter, *Chitin Handbook*, European Chitin Society, 475–489.
- No, H. K., Meyer, S. P., & Lee., 1989, Isolation and characterisation of chitin from crawfish shell waste, *J. Agricul Food Chem*, 37 : 575–579.
- Qin, C., Li, H., Xiao, Q., Liu, Y., Zhu, J., & Du, Y. 2006. Water-solubility of chitosan and its antimicrobial activity. *Carbohydrate Polymers*, 63, 367–374.
- Qin, C.Q., Du, Y.M., & Xiao, L. 2002. Effect of hydrogen peroxide treatment on the molecular weight and structure of chitosan. *Polym. Degrad. Stab.*, 76, 211–218.
- Rukayadi, Y. 2002. Kitin deasetilase dan pemanfaatannya. *Hayati*, 9, 130–134.
- Shao, J., Yang, Y., & Zhong, Q. 2003. Studies on preparation of oligoglucosamine by oxidative degradation under microwave irradiation. *Polym. Degrad. Stab.*, 82, 395–398.
- Srijanto, B., Paryanto, I., Masduki, & Purwatiningsih. 2006. Pengaruh derajat deasetilasi bahan baku pada depolimerisasi kitosan. *Akta Kimindo*, 1, 67–72.
- Tanasale, M.F.J.D.P., Killay, A. & Saily, M. 2006. Kitosan dari limbah udang windu (*Penaeus monodon*) sebagai adsorben fenol. *J. Alchemy* 5: 23–30.
- Tanasale, M.F.J.D.P., Killay, A. & Laratmase, M.S. 2012. Kitosan dari limbah kulit kepiting rajungan (*Portunus sanguinolentus* L.) sebagai adsorben zat warna biru metilena. *J. Natur Indo.*, 14: 165–171.
- Tanioka, S., Matsui, Y., Irie, T., Tanigawa, T., Tanaka, Y., Shibata, H., Sawa, Y, & Kono, Y. 1996. Oxidative depolymerization of chitosan by hydroxyl radical. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 60, 2001–2004.
- Tian, F., Liu, Y., Hu, K., & Zhao, B. 2004. Study of depolymerization behavoir of chitosan by hydrogen peroxide. *Carbohydrate Polymers*, 57, 31–37.
- Varum, K.M., Anthonsen, M.W., Grasdalen, H., & Smidsrod, O. 1991. ¹³C-NMR studies of the acetylation sequences in partially N-deacetylated chitins (chitosans). *Carbohydrate Research*, 217, 19–27.
- Wang, S.M., Huang, Q.Z., & Wang, Q.S. 2005. Study on the synergetic degradation of chitosan with ultraviolet light and hydrogen peroxyde. *Carbohydrate Research*, 340, 1143–1147.
- Yue, W., Yao, P., & Wei, Y. 2009. Influence of ultraviolet-irradiated oxygen on depolymerization of chitosan. *Polym. Degrad. Stab.*, 94, 851–858.
- Zheng, X., Yin, Y., Jiang, W., Xing, L., & Pu, J. 2015. Synthesis and characterization of low molecular weight chitosan. *BioResources*, 10, 2338–2348.