

PENGARUH METODE DEPOLIMERISASI κ -KARAGINAN

Nita Indriyani¹, Suhria Heremba¹

¹Program Studi Teknik Kimia, Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong
Corresponding Author: indriyani61@gmail.com

ABSTRAK

κ -karaginan yang bermanfaat pada aplikasi biomedis adalah κ -karaginan dengan berat molekul rendah, sehingga κ -karaginan dapat masuk ke dalam sel lebih efisien dan efektif dibandingkan κ -karaginan berat molekul tinggi. Proses depolimerasi dilakukan dengan variabel suhu 313 K, 323 K, dan 333 K. Metode depolimerisasi κ -karaginan pada proses hidrolisis asam berbantu gelombang ultrasonik pada kondisi pH 3, 32 menit, dan suhu 333 K (60°C) memberikan hasil yang tinggi yaitu sebesar 97,75% penurunan berat molekul. Waktu proses hidrolisis asam berbantu gelombang ultrasonik relatif cepat. Pada proses hidrolisis enzim memberikan hasil penurunan BM 57,30%. Waktu reaksi diperlukan cukup lama yaitu 3 jam dengan suhu 323 K (50°C). Pada kedua proses tersebut berdasar hasil FT-IR menunjukkan adanya pemutusan ikatan sulfat atau desulfatasi. Nilai absorbansi terlihat jelas penurunannya terjadi pada proses hidrolisis asam dengan bantuan gelombang ultrasonik pada kondisi pH 3, 32 menit, dan suhu 333 K (60°C).

Keywords: ultrasonik, hidrolisis, karaginan, berat molekul

ABSTRACT

κ -carrageenan which is useful in biomedical applications is κ -carrageenan with low molecular weight, resulting in κ -carrageenan can enter cells more efficiently and effectively than κ -carrageenan with high molecular weight. The depolymerization process was carried out with temperature variables of 313 K, 323 K, and 333 K. κ -carrageenan depolymerization method in the ultrasonic wave-assisted acid hydrolysis process at pH 3, 32 minutes, and a temperature of 333 K (60°C) gave a high yield of 97,75% decrease in molecular weight. The ultrasonic wave-assisted acid hydrolysis process time is relatively fast. In the enzyme hydrolysis process, the results of the reduction in BM are 57.30%. The reaction time required is quite long, namely 3 hours at a temperature of 323 K (50°C). In both processes, based on the results of FT-IR, it shows that there is a break in the sulfate bond or desulphate. The absorbance value was clearly decreased in the acid hydrolysis process assisted by ultrasonic waves at pH 3, 32 minutes, and a temperature of 333 K (60°C).

Keywords: ultrasonic, hydrolysis, carrageenan, molecular weight

1. Pendahuluan

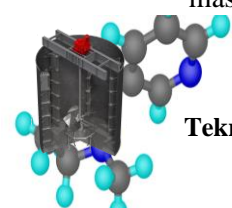
Kappaphycus alvarezii merupakan rumput laut yang menghasilkan κ -karaginan. Kegunaan κ -karaginan antara lain sebagai penstabil (*stabilizer*), bahan pengentalan (*thickener*), pembentuk gel, pengemulsi yang banyak dimanfaatkan dalam industri makanan, obat-obatan, kosmetika, tekstil, cat, pasta gigi, dan industri lainnya (Winarno, 1996). Selain itu, κ -karaginan juga mulai dikembangkan dalam aplikasi biomedis, yaitu sebagai inhibitor pertumbuhan tumor (Haijin dkk., 2003), antiseptik (Carlucci dkk., 1999), antivirus (Yamada dkk., 2000; Chiu dkk., 2012), antikoagulan (Silva dkk., 2010; Yamada dkk., 2000; Gomez dkk., 2014) dan antioksidan (De Souza dkk., 2012; Gomez dkk., 2014).

κ -karaginan yang bermanfaat pada aplikasi biomedis adalah κ -karaginan dengan berat molekul (BM) rendah, yaitu κ -karaginan yang memiliki berat molekul < 20 kDa (De Souza dkk., 2012). Dengan ukuran yang kecil, κ -karaginan dapat masuk ke dalam sel dengan lebih efisien dan efektif

dibandingkan karaginan berat molekul tinggi (Wijesekara dkk., 2011).

Ada beberapa metode yang dapat digunakan untuk memperoleh BM rendah κ -karaginan yaitu dengan cara proses hidrolisis secara kimiawi dengan katalis asam (Yuan & Song, 2005) dan hidrolisis secara enzimatik dengan enzim *carragenase* (Haijin dkk., 2003). Selain itu, teknik depolimerisasi lainnya adalah dengan cara termal (Lai dkk., 2000), iradiasi (De Souza dkk., 2012; Abad dkk., 2010), dan ultrasonikasi (Taghizadeh dkk., 2015; Ratnawati & Indriyani., 2020).

Proses depolimerisasi dengan reaksi hidrolisis κ -karaginan dengan menggunakan enzim α -amilase melalui beberapa mekanisme. Yang pertama, transfer molekul enzim ke permukaan molekul karaginan. Kemudian akan terjadi adsorpsi molekul enzim ke dalam permukaan karaginan yang menyebabkan terbentuknya formasi enzim-substrat (E-S). Selanjutnya transfer molekul air ke dalam sisi aktif E-S yang menyebabkan terjadinya reaksi antara air dengan karaginan yang dikatalisasi oleh



E-S. Tahap terakhir adalah transfer produk hasil reaksi (Sarkar & Etters, 2004).

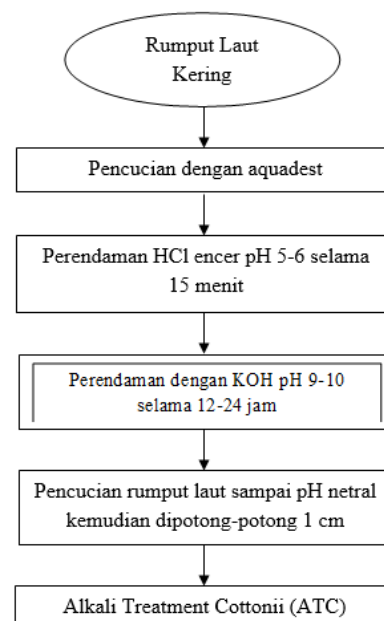
Proses depolimerisasi dengan metode sonikasi, yaitu dengan bantuan gelombang ultrasonik, dapat dijadikan metode alternatif, karena relatif ekonomis, sederhana, hemat waktu dan energi, serta sesuai untuk aplikasi bahan pangan. Ketika gelombang ultrasonik dikenakan terhadap suatu cairan, maka akan timbul gelombang tekanan yang mengakibatkan terjadinya kavitasi, yang terdiri dari terbentuknya inti, pertumbuhan, dan pecahnya gelembung mikro. Segmen polimer yang berada di sekitar gelembung yang pecah ini akan bergerak dengan kecepatan yang lebih tinggi dibandingkan dengan segmen yang berada agak jauh dari gelembung yang pecah. Gradien kecepatan ini akan menyebabkan rantai polimer memanjang, dan timbul tegangan di sepanjang rantai polimer, yang pada akhirnya dapat menyebabkan putusnya rantai polimer di tengah molekul (Akyüz dkk., 2008; Caruso dkk., 2009). Pecahnya gelembung juga dapat menyebabkan kenaikan temperatur dan tekanan instan (hanya berumur 10^{-10} detik). Tekanan dan temperatur di dalam gelembung bisa mencapai 1000 atm dan 5000 K, sementara temperatur lapisan tipis cairan di sekitar gelembung bisa mencapai 1000 K (Suslick & Flannigan, 2008). Temperatur yang sangat tinggi ini dapat menyebabkan terdisosiasinya air menjadi radikal hidrogen dan hidroksil.

Penelitian ini menganalisis dan mengamati pengaruh dua metode proses antara hidrolisis enzim dan hidrolisis asam berbantu gelombang ultrasonik untuk mendepolimerisasi κ -karaginan. Dalam penelitian ini pengaruh dua proses tersebut terhadap penurunan berat molekul dan struktur kimia κ -karaginan hasil depolimerisasi.

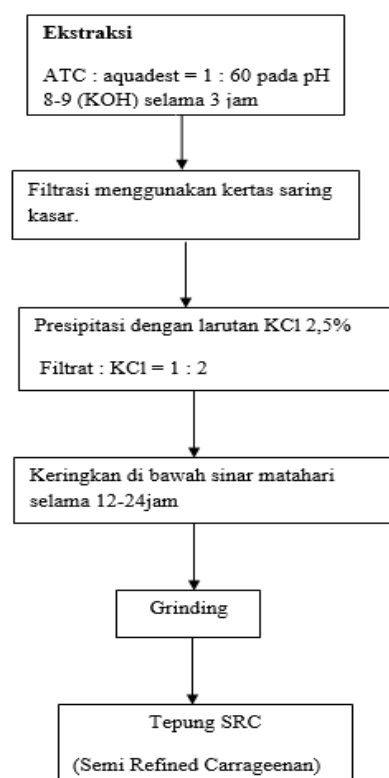
2. Metode Penelitian

2.1 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah rumput laut *Euchema cottonii* yang diolah terlebih dulu menjadi tepung *Semi Refined Carrageenan* (SRC), kemudian dari SRC tersebut dilakukan proses hidrolisis enzim.



Gambar 1. Diagram Alir Proses Pembuatan *Alkali Treatment Cottonii (ATC)*



Gambar 2. Diagram Alir Proses Pembuatan *Semi Refined Carrageenan (SRC)*

2.2 Penentuan Berat Molekul

Penentuan berat molekul rata-rata menggunakan persamaan model matematik yang menghubungkan antara viskositas intrinsik dan berat molekul. Viskositas intrinsik dapat diperoleh dengan menggunakan Persamaan Huggins (1):



$$\eta_{sp}/C = [\eta] + k_H [\eta]^2 C \quad (1)$$

dengan η_{sp} , $[\eta]$, C , dan k_H adalah viskositas spesifik, viskositas intrinsik, konsentrasi larutan, dan konstanta Huggins dengan nilai sebesar 0,3 (Vreeman dkk., 1980).

Hubungan antara berat molekul dengan viskositas intrinsik mengikuti persamaan Mark-Houwink (Vivian dkk., 2000) sebagai berikut:

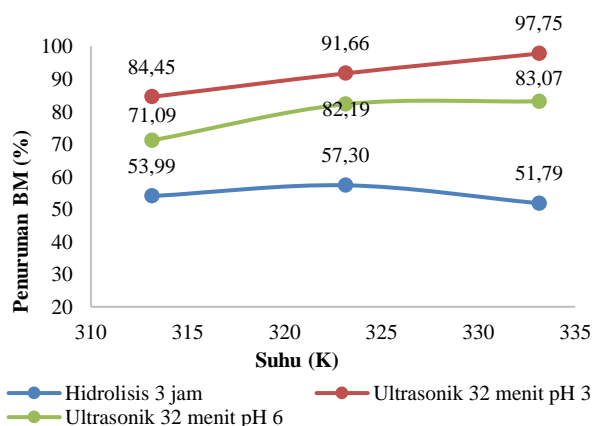
$$[\eta] = k_{MH} \cdot M^\alpha \quad (2)$$

dengan konstanta k_{MH} dan α untuk κ -karaginan terlarut dalam air pada suhu 25°C adalah masing-masing sebesar 0,00778 dan 0,90 (Vreeman dkk., 1980; Rochas dkk., 1990), dan M adalah berat molekul rata-rata.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Pengaruh Metode Depolimerisasi terhadap Penurunan Berat Molekul

Pengaruh metode antara hidrolisis enzim dengan hidrolisis asam berbantu gelombang ultrasonik ditampilkan pada gambar 3. Proses dilakukan pada suhu 313 K, 323 K, dan 333 K. Terlihat bahwa pada proses hidrolisis enzim selama 3 jam penurunan BM berkisar di 50%, dibandingkan dengan proses hidrolisis asam berbantu gelombang ultrasonik yang memberikan nilai 80-90%. Hal ini dikarenakan pada proses hidrolisis enzim suhu reaksi memiliki pengaruh terhadap aktivitas enzim, terlihat pada gambar 3 bahwa pada suhu 333 K (60°C) penurunan BM memiliki nilai rendah dibandingkan pada suhu 323 K (50°C). Penelitian lain melaporkan suhu optimal untuk hidrolisa enzim κ -karaginan berbeda-beda yaitu pada suhu 30°C (Sun et al., 2010; Zhou et al., 2008), 40 °C (Khambhaty et al., 2007), dan 55 °C (Liu et al., 2011). Suhu optimal yang berbeda ini disebabkan oleh perbedaan substrat, sumber enzim dan waktu reaksi (Zhang, 2002).



Gambar 3. Pengaruh Suhu Terhadap Penurunan BM

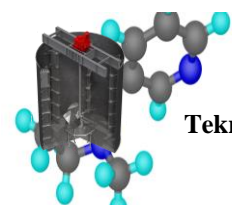
Pada gambar 3 untuk proses hidrolisis asam berbantu gelombang ultrasonik menampilkan nilai penurunan BM yang tinggi. Hal ini dikarenakan adanya pengaruh suhu dan pH. Myslabodski dkk. (1996) melakukan hidrolisis asam terhadap κ -karaginan pada berbagai suhu dan pH. Mereka melaporkan bahwa berat molekul rata-rata κ -karaginan berkurang sebesar 25%, hidrolisis pada pH 6 dan suhu 50, 70, dan 90°C masing-masing dalam waktu 12 hari, 6 jam, dan 1,4 jam. Hidrolisis pada pH yang berbeda memberikan hasil yang serupa. Ini membuktikan bahwa suhu memberikan pengaruh positif pada depolimerisasi. Menurut Yoon (2010), mekanisme hidrolisis galaktan dari ekstrak rumput laut memiliki pola yang sama seperti selulosa. Gugus O glikosidik dalam ikatan β -1,4-glikosidik cepat bereaksi dengan proton (H^+) dari katalis asam untuk membentuk asam konjugasi. Ikatan C-O mengalami pemutusan yang lambat untuk membentuk dua bagian, yaitu satu bagian memiliki gugus OH dan bagian lain berupa karbokation siklik. Reaksi pemutusan ikatan C-O ini berjalan lambat. Penambahan molekul air yang cepat ke dalam karbokation menghasilkan bagian produk yang stabil dengan dilepaskannya proton. Reaksi ini berlangsung cepat seiring dengan naiknya suhu (Xiang dkk., 2003).

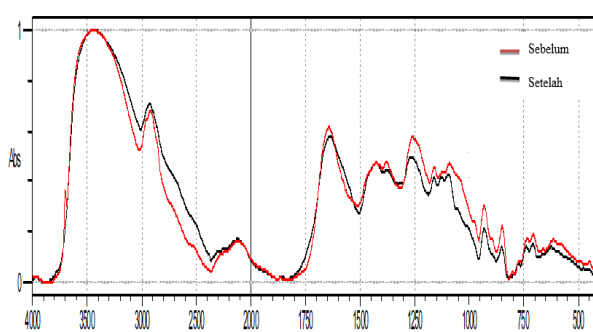
3.1 Pengaruh Metode Depolimerisasi terhadap Struktur Kimia κ -Karaginan

Analisis FT-IR bertujuan untuk mengidentifikasi ikatan kimia atau gugus fungsi dalam κ -karaginan. Rentang bilangan gelombang dan gugus fungsi κ -karaginan tersaji pada table 1.

Tabel 1. Bilangan gelombang spektrum FT-IR pada κ -karaginan

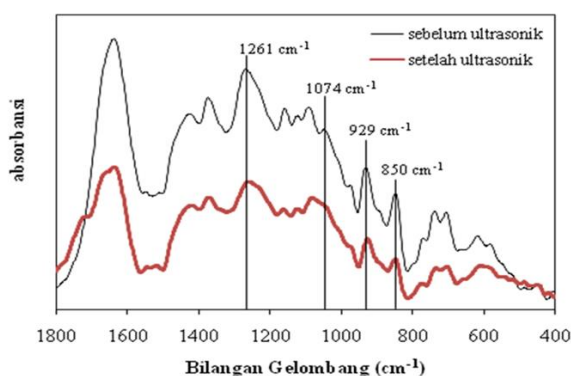
Gugus Fungsional	Bilangan Gelombang (cm^{-1})
Ester sulfat (-S=O)	1380-1355
O=S=O (Ester sulfat asimetrik)	1270-1230
Ikatan glikosidik	1080-1040
3,6 anhidro-D-galaktosa	940-930
Galaktosa 4-sulfat	850-840





Gambar 4. Spektrogram FT-IR Sebelum dan Setelah Hidrolisis enzim κ -karaginan

Gambar 4 menunjukkan adanya gugus ester sulfat sebelum hidrolisis di puncak $1377,12\text{ cm}^{-1}$ dan setelah hidrolisis di puncak $1375,19\text{ cm}^{-1}$. Ikatan glikosidik sebelum hidrolisis terlihat di puncak $1087,8\text{ cm}^{-1}$ dan setelah hidrolisis di puncak $1055,01\text{ cm}^{-1}$. Gugus 3,6 anhydro-L-galaktosa sebelum hidrolisis ada di puncak $931,57\text{ cm}^{-1}$ dan setelah hidrolisis di $929,64\text{ cm}^{-1}$. Serta adanya galaktosa 4-sulfat yang mengindikasikan jenis kappa karaginan di puncak $848,63\text{ cm}^{-1}$ sebelum hidrolisis, dan di puncak $850,56\text{ cm}^{-1}$ sesudah hidrolisis. Adanya gugus ν_{as} ester sulfat sebelum hidrolisis di puncak $1259,47\text{ cm}^{-1}$, tetapi tidak ditemukan puncak sesudah hidrolisis pada panjang gelombang $1250-1240\text{ cm}^{-1}$.



Gambar 5. Spektrogram FT-IR sebelum dan setelah Ultrasonik κ -karaginan

Berdasar hasil FT-IR Gambar 5 terlihat bahwa intensitas absorbansi sampel κ -karaginan sebelum ultrasonik lebih tinggi dibandingkan setelah ultrasonik. Hal ini disebabkan rantai hidrogen putus kemudian molekul-molekul air didistribusikan ke dalam gugus OH (Venegas dkk., 2013). Penurunan intensitas absorbansi terjadi pada gugus ester sulfat ($\text{S}=\text{O}$) pada puncak 1261 cm^{-1} . Pada puncak 850 cm^{-1} yang menunjukkan adanya ikatan galaktosa 4-sulfat ($\text{C}-\text{O}-\text{S}$) intensitas absorbansi turun dari $0,0982$ menjadi $0,0426$. Puncak pada bilangan

gelombang 929 cm^{-1} menunjukkan adanya ikatan $\text{C}-\text{O}$ dari 3,6-anhydro-D-galaktosa mengalami penurunan intensitas absorbansi $0,1191$ menjadi $0,0595$. Gugus sulfat pada κ -karaginan setelah proses irradiasi cenderung stabil dibandingkan iota dan lamda karaginan. Gugus ikatan glikosidik ditunjukkan pada puncak 1074 cm^{-1} sebelum ultrasonik, namun setelah ultrasonik terjadi penurunan intensitas pada bilangan gelombang $1080-1040\text{ cm}^{-1}$. Hal ini membuktikan bahwa pemutusan ikatan terutama terjadi pada ikatan glikosidik $\alpha (1\rightarrow3)$ dan $\beta (1\rightarrow4)$ (Lai dkk., 2000; Lii dkk., 1999).

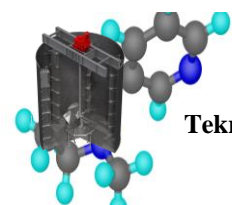
Kedua data FT-IR di atas dapat disimpulkan bahwa terjadi pemutusan ikatan sulfat atau desulfatasi pada proses hidrolisis enzim maupun berbantu gelombang ultrasonik yang dilakukan.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan di atas metode depolimerisasi κ -karaginan pada proses hidrolisis asam berbantu gelombang ultrasonik pada kondisi pH 3, 32 menit, dan suhu 333 K (60°C) memberikan hasil yang tinggi yaitu sebesar $97,75\%$ penurunan berat molekul. Waktu proses hidrolisis asam berbantu gelombang ultrasonik relatif cepat. Pada proses hidrolisis enzim memberikan hasil penurunan BM $57,30\%$. Waktu reaksi diperlukan cukup lama yaitu 3 jam dengan suhu 323 K (50°C). Pada kedua proses tersebut berdasar hasil FT-IR menunjukkan adanya pemutusan ikatan sulfat atau desulfatasi. Nilai absorbansi terlihat jelas penurunannya terjadi pada proses hidrolisis asam berbantu gelombang ultrasonik pada kondisi pH 3, 32 menit, dan suhu 333 K (60°C).

5. Daftar Pustaka

- Abad, L. V., Kudo, H., Saiki, S., Nagasawa, N., Tamada, M., Fu, H., ... & DeLaRosa, A. M. (2010). Radiolysis studies of aqueous κ -carrageenan. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 268(10), 1607-1612.
- Akyüz, A., Catalgil-Giz, H., & Giz, A. T. (2008). Kinetics of Ultrasonic Polymer Degradation: Comparison of Theoretical Models with On-Line Data. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 209(8), 801-809.
- Carlucci, M. J., Ciancia, M., Matulewicz, M. C., Cerezo, A. S., & Damonte, E. B. (1999).





Antiherpetic activity and mode of action of natural carrageenans of diverse structural types. *Antiviral research*, 43(2), 93-102.

Caruso, M. M., Davis, D. A., Shen, Q., Odom, S. A., Sottos, N. R., White, S. R., & Moore, J. S. (2009). Mechanically-induced chemical changes in polymeric materials. *Chemical reviews*, 109(11), 5755-5798.

Chiu, Y. H., Chan, Y. L., Tsai, L. W., Li, T. L., & Wu, C. J. (2012). Prevention of human enterovirus 71 infection by kappa carrageenan. *Antiviral research*, 95(2), 128-134.

de Souza, L. A. R., Dore, C. M. P., Castro, A. J., de Azevedo, T. C., de Oliveira, M. T. B., Maria de Fátima, V. M., ... & Leite, E. L. (2012). Galactans from the red seaweed *Amansia multifida* and their effects on inflammation, angiogenesis, coagulation and cell viability. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 2(3), 154-162.

Gómez-Ordóñez, E., Jimenez-Escrig, A., & Rupérez, P. (2014). Bioactivity of Sulfated Polysaccharides from the Edible Red Seaweed *Mastocarpus stellatus*, Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 3(1), 29-40.

Haijin, M., Xiaolu, J., and Huashi, G.A., (2003), κ -Carrageenan Derived Oligosaccharide Prepared by Enzymatic Degradation Containing Antitumor Activity, *Journal of Applied Phycology*, 15(4), 297-303.

Khambhaty, Y., Mody, K., & Jha, B. (2007). Purification and characterization of κ -carrageenase from a novel γ -proteobacterium, *Pseudomonas elongata* (MTCC 5261) syn. *Microbulbifer elongatus* comb. Nov. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 12(6), 668-675.

Liu, G. L., Li, Y., Chi, Z., & Chi, Z. M. (2011). Purification and characterization of κ -carrageenase from the marine bacterium *Pseudoalteromonas porphyrae* for hydrolysis of κ -carrageenan. *Process biochemistry*, 46(1), 265-271.

Lai, V. M. F., Lii, C. Y., Hung, W. L., & Lu, T. J. (2000). Kinetic compensation effect in depolymerisation of food polysaccharides. *Food Chemistry*, 68(3), 319-325.

Lii, C. Y., Chen, C. H., Yeh, A. I., & Lai, V. M. F. (1999). Preliminary study on the degradation kinetics of agarose and carrageenans by ultrasound. *Food Hydrocolloids*, 13(6), 477-481.

Myslábodski, D. E., Stancioff, D., & Heckert, R. A. (1996). Effect of acid hydrolysis on the molecular weight of kappa carrageenan by GPC-LS. *Carbohydrate Polymers*, 31(1-2), 83-92.

Ratnawati, R., & Indriyani, N. (2020). Kinetics and Thermodynamics Study of Ultrasound-Assisted Depolymerization of κ -Carrageenan in Acidic Solution. *Bulletin of Chemical Reaction Engineering & Catalysis*, 15(1), 280-289.

Rochas, C., Rinaudo, M., & Landry, S. (1990). Role of the molecular weight on the mechanical properties of kappa carrageenan gels. *Carbohydrate Polymers*, 12(3), 255-266.

Sarkar, A. K., Eters, J. N., (2004). *Enzymatic Hydrolysis of Cotton Fibers: Modeling Using an Empirical Equation*, *Journal of Cotton Science* 8, 254-260.

Silva, F. R. F., Dore, C. M. P. G., Marques, C. T., Nascimento, M. S., Benevides, N. M. B., Rocha, H. A. O., ... & Leite, E. L. (2010). Anticoagulant activity, paw edema and pleurisy induced carrageenan: Action of major types of commercial carrageenans. *Carbohydrate Polymers*, 79(1), 26-33.

Sun, F. S., Ma, Y. X., Wang, Y., & Liu, Q. (2010), *Purification and characterization of novel κ -carrageenase from marine *Tamlana* sp. HC4*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 28(6), 1139-1145.

Suslick, K. S. & Flannigan, D., (2008), Inside a Collapsing Bubble: Sonoluminescence and the Conditions during Cavitation. *Annual Review of Physical Chemistry*, 59, 659-683.

Taghizadeh, M. T., Abdollahi, R., (2015), Influence of Different Degradation Techniques on the Molecular Weight Distribution of κ -Carrageenan, *International Journal of Biochemistry and Biophysics*, 3(3), 25-33.

Venegas-Sanchez, J. A., et al., (2013), Ultrasound effect used as external stimulus for

viscosity change of aqueous carrageenans, *Ultrasonics Sonochemistry*, 20,1081-1091.

Vreeman, H.J. Soneren, T.H.M., and Payens, T.A.J., (1980), Physicochemical Investigation of κ -Carrageenan in the Random State, *Biopolymers*, 19, 1357-1354.

Vivian, M. Lai, F. Lii, C. Hung, W.L. Lu, T.J., (2000), Kinetic compensation effect in depolymerisation of food polysaccharides. *Food Chemistry*, 68: 319-325.

Winarno, F.G., (1996), *Teknologi Pengolahan Rumput Laut*. Pustaka Sinar Harapan, Jakarta.

Wijesekara, I. Pangestuti, R. and Kim, S.K., (2011), Biological Activities and Potential Health Benefits of Sulfated Polysaccharides Derived from Marine Algae, *Carbohydrate Polymers*, 84, 14-21.

Xiang, Q., Lee, Y.Y., Petterson, P.O., and Torget, R.W., (2003), Heterogeneous Aspects of Acid Hydrolysis of α -Cellulose, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 107, 505-514.

Yuan, H., & Song, J., (2005), Preparation Structural Characterization and in vitro Anti Tumor Activity of Kappa Carrageenan Oligosaccharide Fraction from *Kappaphycus striatum*, *Journal of Applied Phycology*, 17, 7-13.

Yamada, T., Ogamo, A., Saito, T., Uchiyama, H., Nakagawa, Y., (2000), Preparation of O-Acylated Low-Molecular-Weight Carrageenans with Potent Anti-HIV Activity and Low Anticoagulant Effect, *Carbohydrate Polymers*, 41,115-120.

Yoon, Y.S., (2010), Method for Producing Biofuels via Hydrolysis of Seaweed Extract using Heterogeneous Catalyst, US Patent WO 2010098585 A2.

Zhou, M. H., Ma, J. S., Li, J., Ye, H. R., Huang, K. X., & Zhao, X. W. 2008. *A κ -carrageenase from a newly isolated pseudoalteromonas-like bacterium, WZUC10*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 13, 545–551.

Zhang, T. F. 2002. *General theory of the enzyme*. In J. Y. Wang, S. G. Zhu, & C. F. Xu (Eds.), *Biochemistry* (pp. 335–336). Beijing: Higher Education Press (in Chinese).

