

PENGARUH BERAT MOLEKUL KITOSAN TERHADAP KELARUTAN KARBOKSIMETIL KITOSAN

Natalia Suseno¹, Karsono S.Padmawijaya², Je Welly Wirana³, Michael Julio⁴

*Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Surabaya
Jl. Raya Kalirungkut, Surabaya 60293*

E-mail : Natalia@staff.ubaya.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari pengaruh berat molekul kitosan pada proses karboksilasi kitosan terhadap sifat kelarutan karboksimetil kitosan (KMK) pada $\text{pH} \geq 7$. Untuk mendapatkan kitosan dengan berbagai berat molekul ($M_v: 3,7 \cdot 10^5 - 2,5 \cdot 10^6$), dilakukan proses hidrolisis kimia dengan larutan HCl pada berbagai variasi konsentrasi dan waktu hidrolisis. Karboksi metil kitosan disintesis dari kitosan hasil hidrolisis dengan metode alkalisasi dan karboksimetilasi pada kondisi suhu 60°C , waktu 3 jam, dan konsentrasi NaOH 30% (b/v). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat kelarutan karboksimetil kitosan meningkat seiring dengan menurunnya berat molekul kitosan yang digunakan. Hasil percobaan menunjukkan, nilai kelarutan tertinggi karboksimetil kitosan hasil sintesis sebesar 100% dalam pelarut HCl 0,1N ; 61,57% dalam asam asetat 1%; dan 65,34% dalam air. Karboksimetil kitosan memiliki serapan FTIR yang kuat pada daerah $1658,61 \text{ cm}^{-1}$ dan $1422,48 \text{ cm}^{-1}$

Kata kunci: kitosan, karboksimetilasi, karboksimetil kitosan

THE EFFECT OF MOLECULAR WEIGHT OF CHITOSAN ON SOLUBILITY PROPERTIES OF CARBOXYMETHYL CHITOSAN

ABSTRACT

This research was conducted to study the effect of molecular weight of chitosan to the solubility of carboxymethyl chitosan (CMCh) to carboxylation process at $\text{pH} \geq 7$. To obtain chitosans with various molecular weights ($M_v: 3.7 \cdot 10^5 - 2.5 \cdot 10^6$), chemical hydrolysis processes were carried out by using various hydrochloric acid concentrations combined with varying time of hydrolysis. Carboxymethyl chitosan was synthesized by alkalization and etherification reaction of chitosan at 60°C , 3 hours, and concentration of NaOH 30% (b/v). The results showed that the solubility of carboxymethyl chitosan increased with the decreased of molecular weight of chitosan. The result of the result showed, the solubility of carboxymethyl chitosan are 100% in HCl 0,1N and acetic acid 10%, 61,57% in acetic acid 1%, and 65,34% in water. Carboxymethyl chitosan (CMCh) has strong FTIR adsorption of carboxylmethyl group in $1658,61 \text{ cm}^{-1}$ dan $1412,48 \text{ cm}^{-1}$.

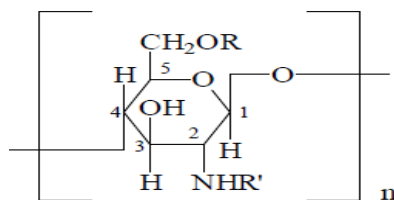
Keywords: chitosan, carboxymethylation, carboxymethyl chitosan

PENDAHULUAN

Karboksimetil kitosan (KMK) merupakan bahan alam yang berasal dari senyawa turunan kitosan yang merupakan hasil deasetilasi dari kitin. Kitin merupakan biopolimer alami yang diisolasi dari kulit *Crustacea sp*, misalnya udang, ketam, kepiting, serangga, jamur, dan ragi. Salah satu turunan kitin yang paling banyak dikembangkan adalah kitosan. Kitosan dengan rumus umum $(C_6H_9NO_3)_n$ merupakan salah satu protein yang memiliki gugus amino yang merupakan basa lemah yang terprotonasi dengan $pH < pK_a$ sekitar 6,5. Pelarutan kitosan hanya dapat terjadi dalam larutan asam encer, antara lain dalam pelarut asam asetat, asam laktat, dan asam klorida encer. Kelarutan kitosan dipengaruhi oleh berat molekul, derajat deasetilasi, dan rotasi spesifiknya yang beragam tergantung pada sumber dan metode isolasi dan transformasinya. [1].

Kitosan yang dihasilkan dari proses deasetilasi kitin memiliki berat molekul pada umumnya cukup tinggi (10^6-10^7), sehingga sulit larut dalam air. Kelarutan kitosan dapat ditingkatkan dengan melakukan depolimerisasi atau modifikasi secara kimia. Upaya penurunan berat molekul kitosan dengan cara depolimerisasi dapat dilakukan dengan satu atau dua tahap proses hidrolisis kimiawi dengan menggunakan larutan HCl. Beberapa peneliti telah mempelajari pengaruh kondisi reaksi hidrolisis, meliputi variasi konsentrasi larutan HCl, suhu dan waktu hidrolisis untuk mendapatkan kitosan dengan berbagai kisaran berat molekul antara (10^5-10^4) [2-3].

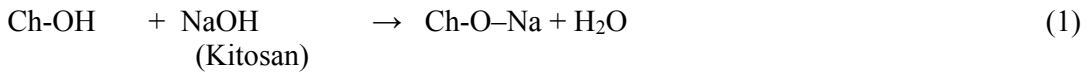
Diantara turunan kitosan yang dapat larut dalam air, karboksimetil kitosan merupakan turunan kitosan yang bersifat amfoter akibat gugus $-COOH$ dan $-NH_2$ yang dimilikinya, sehingga aplikasinya menjadi lebih luas. Aplikasi karboksimetil kitosan antara lain : sebagai antimikroba, adsorben, membran, dan dapat digunakan untuk meningkatkan kekuatan mekanik dan elektrik dari kertas. [4,5,6,7] Karboksimetil kitosan (KMK) adalah kitosan yang tersubstitusi oleh gugus karboksimetil pada gugus hidroksil ($-OH$) dan/atau gugus amina ($-NH_2$), sehingga karboksimetil kitosan dapat membentuk 3 jenis karboksimetil kitosan masing-masing N-, O-, N-O karboksimetil kitosan. Struktur dari kitosan dan karbosimetil kitosan ditunjukkan pada gambar 1, dimana ($R, R'=H$); dan O-CMC ($R=CH_2COOH, R'=H$); N,O-CMC ($R, R'=CH_2COOH$) [8].



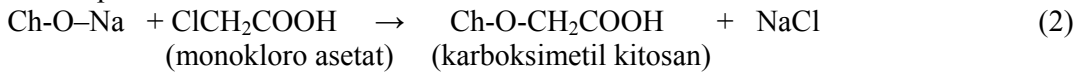
Gambar 1. Struktur Kitosan dan Karboksimetil kitosan

Pembuatan karboksimetil kitosan dapat dilakukan melalui 2 tahap reaksi, yaitu reaksi alkalisasi dan reaksi eterifikasi. Pada tahap alkalisasi terjadi reaksi antara kitosan dengan larutan soda (basa) menjadi alkali kitosan, sedangkan pada tahap karboksimetilasi terjadi reaksi antara alkali kitosan dengan senyawa asam monokloroasetat menjadi karboksimetil kitosan (KMK). Jika monokloroasetat berlebih dapat bereaksi dengan natrium hidroksida membentuk hasil samping garam natrium glikonal dan natrium klorida.

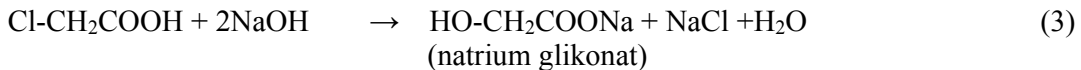
1. Tahap alkalisasi



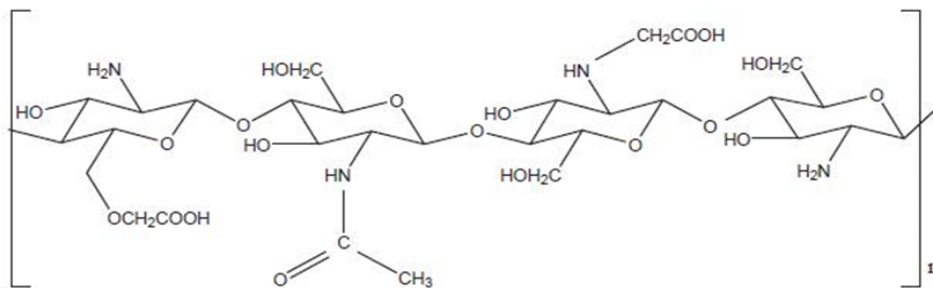
2. Tahap karboksilasi



Reaksi samping yang mungkin terjadi:



Berikut pada gambar 2. contoh dari struktur N-karboksimetil kitosan :



Gambar 2. Struktur N-Karboksimetil kitosan. [9]

Berdasarkan kondisi proses sintesis karboksimetil kitosan melalui proses alkalisasi dan eterifikasi, terdapat beberapa faktor antara lain rasio monokloroasetat terhadap kitosan, konsentrasi natrium hidroksida, waktu dan suhu reaksi karboksilasi yang mempengaruhi derajat substitusi dan kelarutan dari karboksimetil kitosan yang dihasilkan. [10,11,12]. Penelitian pembuatan karboksimetil kitosan telah banyak diteliti dengan tujuan untuk meningkatkan kelarutan dan untuk aplikasi tertentu, namun sejauh ini pengaruh variasi berat molekul kitosan terhadap kelarutan karboksi metil kitosan belum ditinjau secara khusus. Pada penelitian terdahulu, telah dilakukan sintesis karboksi metil kitosan dari kitosan dengan berat molekul tertentu ($M_v: 2,5 \times 10^6$) dengan metode alkalisasi dan karboksimetilasi pada berbagai variasi konsentrasi natrium hidroksida (10% - 30%) b/v, suhu ($40^\circ\text{C} - 90^\circ\text{C}$) dan waktu (1 jam - 5 jam). Pada hasil percobaan tersebut, didapatkan bahwa pada kondisi reaksi karboksilasi suhu 60°C , waktu 3 jam, dan konsentrasi NaOH 30% (b/v) , kelarutan maksimum karboksimetil kitosan dalam air sebesar 57 mg/100 ml air. [12]

Pada penelitian ini dilakukan sintesa karboksimetil kitosan dengan kitosan pada berbagai nilai berat molekul dengan tujuan untuk mempelajari pengaruh berat molekul kitosan terhadap sifat kelarutan karboksimetil kitosan. Kondisi proses karboksilasi menggunakan kondisi optimum dari hasil penelitian yang terdahulu. Untuk mendapatkan kitosan dengan berbagai variasi berat molekul ($M_v : 10^5 - 10^6$), dilakukan proses hidrolisis kimia dengan larutan asam klorida pada berbagai variasi konsentrasi dan waktu hidrolisis.

METODE PERCOBAAN

Bahan dan alat

Bahan-bahan yang digunakan antara lain: kitosan (DD) : 89,80% (PT Surindo), (Mv) : $2,50 \cdot 10^6$; asam klorida, p.a, Merck, sodium hidroksida, 95% (PT Chiwi Kimia), monokloro asetat p.a, etanol teknis, 70%, asam asetat glasial, Merck

Peralatan yang digunakan terdiri dari peralatan gelas meliputi labu leher 3, volume 500ml, gelas beker, oil bath, oven, viskometer ubbelohde, FTIR (type Bruker tensor 27)

Metode

Hidrolisis Kitosan

Kitosan yang akan digunakan untuk sintesis karboksimetil kitosan dihidrolisis terlebih dahulu agar diperoleh variasi berat molekul. Sebanyak 5 gram kitosan yang telah dihaluskan dicampur dengan 200 ml akuades dalam 500 ml labu leher tiga, kemudian ditambahkan 5 ml HCl dengan variasi konsentrasi 3N dan 6N. Campuran kemudian dipanaskan dengan variasi waktu (4, 10, 12) jam pada suhu 80°C dan 100°C . Setelah mencapai batas waktu tertentu (4,10,12) jam, campuran kitosan yang terbentuk disaring untuk memisahkan larutan kitosan dengan residu kitosan (apabila terbentuk). Larutan kitosan yang telah dipisahkan, ditetesi dengan NaOH 10% hingga pH netral atau hingga tidak terbentuk padatan. Residu dicuci dengan air dan padatan yang terbentuk kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C . Kitosan hasil hidrolisis dikarakterisasi nilai berat molekul dengan menggunakan metode viskosimetri.[13]

Sintesis karboksimetil kitosan

Sintesis karboksimetil kitosan dilakukan dengan proses alkalisasi, dimana 5 gram kitosan dicampur dengan larutan NaOH 30% sebanyak 100 ml dan dilakukan pengadukan selama 15 menit. Selanjutnya ditambahkan 15 gram asam monokloroasetat dan diaduk selama 3 jam pada suhu 60°C . Campuran hasil reaksi tersebut, kemudian dinetralkan dengan asam asetat 10% dan diendapkan dengan menambahkan larutan etanol 70%. Selanjutnya dilakukan penyaringan untuk memisahkan endapan dan filtrat. Endapan yang merupakan karboksimetil kitosan dikeringkan dalam oven selama 8 jam pada suhu 60°C .

Karakterisasi kitosan dan karboksimetil kitosan

Karakterisasi Kitosan meliputi pengukuran berat molekul derajat deasetilasi dan kelarutan. Pengukuran berat molekul ini menggunakan viskositas intrinsik $[\eta]_{\text{int}}$ dimana larutan kitosan dibuat dalam berbagai konsentrasi 0,1%-0,5% dalam pelarut asam asetat 1%. [13]. Pengukuran berat molekul dengan metode viskosimetri menggunakan viscometer Ubbelohde. Data yang diperoleh kemudian dipetakan pada grafik η_{sp}/C terhadap C. Berat molekul ditentukan menggunakan persamaan Mark-Houwink yaitu:

$$[\eta]_{\text{int}} = k \cdot (Mv)^a, \text{ dimana:} \quad (1)$$

$[\eta]_{\text{int}}$ adalah viskositas intrinsik, k adalah konstanta pelarut, a adalah konstanta, dan Mv adalah berat molekul, dimana $k = 4,74 \cdot 10^{-4}$ dl/gram, dan $a = \text{konstan} = 0,72$. [14]

Pengukuran Derajat Substitusi .

Derajat Substitusi (DS) ditentukan secara titrasi potensiometri dengan cara melarutkan 0,2 gram karboksimetil kitosan dalam 40 ml akuades, kemudian ditambahkan 0,1N HCl hingga pH kurang dari 2. Selanjutnya larutan karboksimetil kitosan dititrasi dengan larutan NaOH 0,1N dengan menambahkan indikator phenolphthalein. Derajat Sustitusi (DS) dihitung dengan persamaan berikut :

$$DS = \frac{161 \times A}{m \times 58 - 28 \times A}$$
$$A = V_{\text{NaOH}} \times C_{\text{NaOH}} \quad (2)$$

dimana :

V_{NaOH} and C_{NaOH} adalah volume dan moralitas NaOH, m KMK adalah massa dari karboksimetil kitosan (g), sedangkan 161 adalah berat molekul glukosamin ; 58 adalah berat molekul karboksi metal.[8]

Pengukuran Kelarutan.

Kelarutan karboksimetil kitosan (KMK) ditentukan dengan mensuspensikan 100 mg KMK ke dalam 10 mL larutan HCl 0,1 M dan diaduk selama 1 jam pada suhu 25°C. Campuran disaring dengan kertas saring, endapan yang terbentuk dicuci dengan aseton dan dikeringkan pada suhu 60°C . [8]

Massa terlarut = massa total sampel – massa yang tidak larut

$$\% \text{ kelarutan} = \frac{\text{massa terlarut}}{100 \text{ ml}} \times 100 \% \quad (3)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hidrolisis Kitosan

Berbagai berat molekul kitosan sebagai hasil proses hidrolisis kitosan awal ($M_v : 2,5 \times 10^6$) menggunakan HCl variasi konsentrasi, suhu, dan waktu hidrolisis ditampilkan pada tabel 1. sebagai berikut:

Tabel 1. Kondisi Proses Hidrolisis Terhadap Berat Molekul Kitosan

Konsentrasi HCl (N)	Temperatur (°C)	Waktu (Jam)	Berat Molekul (g/mol)
-	-	-	$2,5 \times 10^6$
3N	80	4	$1,6 \times 10^6$
3N presipitasi	80	4	$7,1 \times 10^5$
6N presipitasi	100	10	$4,1 \times 10^5$
6N presipitasi	100	12	$3,7 \times 10^5$

Keterangan : presipitasi adalah hasil perolehan larutan kitosan dari hasil filtrasi yang terendapkan dengan penambahan larutan NaOH.

Pada tabel 1, menunjukkan berat molekul kitosan semakin rendah dengan bertambahnya konsentrasi HCl, suhu, dan waktu hidrolisis. Hal ini disebabkan peningkatan konsentrasi HCl, suhu dan waktu meningkatkan laju reaksi hidrolisis dan meningkatkan kelarutan konsentrasi kitosan, sehingga pemecahan ikatan kompleks dapat berjalan dengan lebih sempurna. Berat molekul kitosan hasil hidrolisis bervariasi sebesar $M_v : 1,6 \times 10^6 - 3,7 \times 10^5$. [15]

Karakteristik Karboksimetil Kitosan

Reaksi sintesis karboksimetil kitosan terdiri dari 2 tahap proses reaksi, yaitu reaksi alkalisasi kitosan dengan NaOH dan dilanjutkan dengan reaksi kitosan dengan asam monokloroasetat. Nilai derajat substitusi pada berbagai berat molekul ($M_v : 2,5 \times 10^6$ g/mol - $3,7 \times 10^5$ g/mol) pada kondisi proses esterifikasi menggunakan 30% (b/v) NaOH, temperatur 60°C , dan waktu selama 3 jam ditampilkan dalam tabel 2 berikut:

Tabel 2. Derajat Substitusi Karboksimetil Kitosan Pada Berbagai Berat Molekul Kitosan

Berat Molekul Kitosan M_v , (g/mol)	Derajat Substitusi (DS)
$2,5 \times 10^6$	1,20
$1,6 \times 10^6$	1,13
$7,1 \times 10^5$	0,88
$4,1 \times 10^5$	0,94
$3,7 \times 10^5$	0,87

Berdasarkan tabel 2, menunjukkan bahwa nilai derajat substitusi (DS) tertinggi terdapat pada karboksimetil kitosan dengan berat molekul $2,5 \times 10^6$, yaitu sebesar 1,2 dan nilai DS terendah terdapat pada karboksimetil kitosan dengan berat molekul $3,7 \times 10^5$ yaitu 0,87. Terjadinya penurunan nilai DS ini disebabkan karena terjadinya penurunan berat molekul. Kitosan dengan berat molekul yang lebih tinggi akan memiliki lebih banyak gugus amina ($-\text{NH}_2$), sehingga lebih banyak substitusi yang terjadi dengan gugus karboksimetil dari asam monokloroasetat. Substitusi gugus karboksimetil akan terjadi pada gugus amina terlebih dahulu, kemudian diikuti dengan substitusi gugus hidroksil. Hal ini disebabkan karena gugus amina lebih kuat menarik ion positif dibandingkan dengan gugus hidroksil. [11]. Semakin pendek rantai polimer kitosan, maka gugus amina tersebut juga semakin berkurang sehingga DS akan menurun. Selain itu konsentrasi asam monokloroasetat juga memiliki pengaruh terhadap jumlah gugus karboksil yang tersubstitusi pada kitosan. Penggunaan konsentrasi asam monokloroasetat yang berlebih menyebabkan sejumlah gugus karboksil dari asam monokloroasetat tidak bereaksi secara sempurna dalam pembentukan karboksimetil kitosan sehingga sebagian besar asam monokloroasetat telah bereaksi dengan NaOH membentuk garam NaCl dan natrium glikolat.

Pengukuran Kelarutan

Uji kelarutan dilakukan untuk mengetahui kelarutan hasil sintesis karboksimetil kitosan dalam suatu pelarut. Pada percobaan ini kelarutan diukur dengan melarutkan karboksimetil kitosan ke dalam pelarut HCl, asam asetat, dan air selama 1 jam. Pelarut yang digunakan dalam uji ini merupakan pelarut yang bersifat polar, sehingga karboksimetil kitosan yang bersifat polar akan larut pada pelarut tersebut. Sifat kepolaran yang dimiliki oleh karboksimetil kitosan ini disebabkan karena adanya gugus karboksimetil.

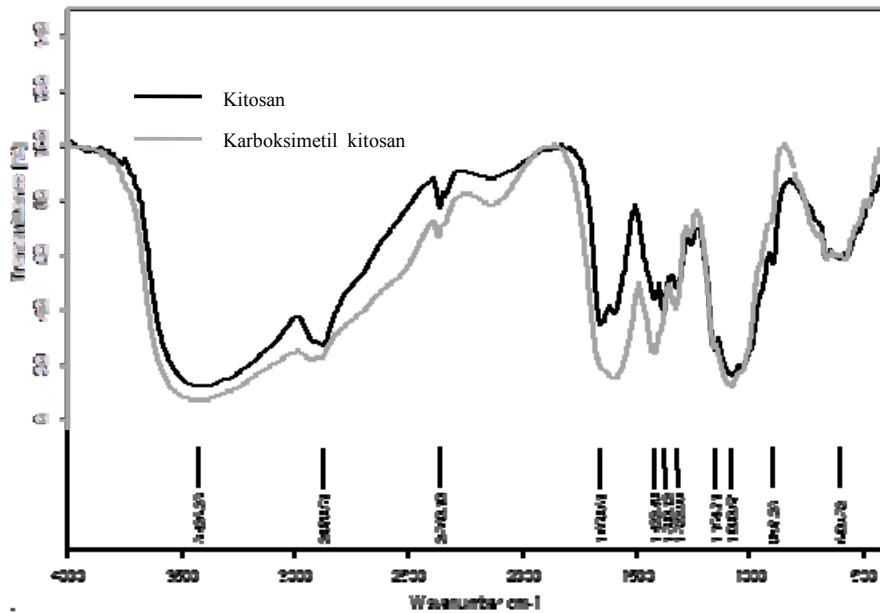
Tabel 3. Hasil kelarutan Karboksimetil Kitosan pada Berbagai Pelarut

Berat molekul Kitosan	Kelarutan Kitosan (%)	Kelarutan Karboksimetil kitosan (%)		
		HCl	As. Asetat 1%	Air
Mv, (g/mol)	Air	HCl	As. Asetat 1%	Air
$2,5 \times 10^6$	8,15	100	43,24	44,36
$1,6 \times 10^6$	11,46	100	49,10	48,04
$7,1 \times 10^5$	15,20	100	54,59	56,76
$4,1 \times 10^5$	17,40	100	55,19	57,40
$3,7 \times 10^5$	18,35	100	61,57	65,34

Pada tabel 3, menunjukkan bahwa dengan penurunan berat molekul kitosan akan meningkatkan kelarutan kitosan dalam air yang berdampak pada peningkatan kelarutan karboksi kitosan dalam air dan larutan asam asetat 1%. Kelarutan tertinggi didapatkan pada kitosan dengan berat molekul kitosan sebesar $3,7 \times 10^5$ dengan kelarutan maksimum 65,34% dalam air, dan 61,57% dalam larutan asam asetat 1%. Kelarutan karboksimetil kitosan dalam pelarut HCl 1% memberikan kelarutan sempurna. Perbedaan hasil ini disebabkan karena HCl merupakan asam kuat yang akan terionisasi sempurna ketika berada dalam larutan sehingga dapat memberikan proton (memprotonasi) senyawa OCH_2COOH yang dilarutkan, sedangkan asam asetat merupakan asam lemah yang hanya dapat terionisasi sebagian dalam larutan dan dapat menyebabkan terjadinya kesetimbangan antara ion yang dihasilkan oleh asam tersebut, molekul asam terlarut, dan molekul air. Akibatnya, kemampuan melarutkan senyawa menjadi berkurang.[9]

Pengukuran FTIR

Struktur kimia karboksimetil kitosan memiliki gugus fungsi utama antara lain gugus OH; N-H; C-H; dan C=O. Kitosan yang termodifikasi dapat tersubstitusi pada gugus -OH atau gugus N-H. Perubahan kitosan menjadi kitosan termodifikasi ini dapat diamati melalui perubahan gugus-gugus fungsi karakteristiknya. Perbedaan antara kitosan dan karboksimetil kitosan terletak pada keberadaan gugus amina atau karboksilnya. Apabila terdapat gugus karboksimetil, maka dapat diperkirakan bahwa karboksimetil kitosan telah terbentuk.



Gambar 3. Spektra FTIR senyawa Karboksimetil kitosan

Perbedaan antara kitosan dan karboksimetil kitosan ditunjukkan pada gambar 3. Pada bilangan gelombang $3424,23 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan serapan -OH untuk karboksimetil kitosan. Pada bilangan gelombang $2878,51 \text{ cm}^{-1}$ terjadi vibrasi rentang C-H alifatik, sedangkan pada $1658,61 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya pelebaran gugus C=O yang semakin banyak. Hal ini disebabkan karena adanya penambahan gugus karboksilat (-COOH) yang berarti telah terbentuknya karboksimetil kitosan. Karboksimetil kitosan memiliki serapan FTIR yang kuat pada daerah $1658,61 \text{ cm}^{-1}$ dan $1422,48 \text{ cm}^{-1}$ [9,11]

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat kelarutan karboksimetil kitosan meningkat seiring dengan menurunnya berat molekul kitosan. Nilai berat molekul terendah menghasilkan KMK dengan nilai kelarutan tertinggi untuk semua jenis pelarut yang digunakan (HCl, asam asetat, dan air). Nilai kelarutan tertinggi karboksimetil kitosan hasil sintesis sebesar 100% dalam pelarut HCl 0,1N , 61,57% dalam asam asetat 1%, dan 65,34% dalam air. karboksimetil kitosan memiliki serapan FTIR yang kuat pada daerah $1658,61 \text{ cm}^{-1}$ dan $1422,48 \text{ cm}^{-1}$.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Rinaudo, Marguerite. "Chitin and chitosan: Properties and applications" *Polymer Science*. 2006;31: 603-632.
- [2]. Mohammad RK, Joseph A, Gerard C. Fragmentation of chitosan by acids. *The Scientific World Journal*. Article ID 508540. 2013
- [3]. Natalia S, Karson SP, Andree S, Nathanael. Pengaruh berat molekul kitosan terhadap sifat fisis kertas daur ulang" *Majalah Polimer Indonesia*. 2015;18 (1): 33-39
- [4]. Reem K. Farag and Riham R. Mohamed. Synthesis and characterization carboxymethyl chitosan nanogels for swelling studies and antimicrobial activity *Journal of Molecules*. 2013;18(1):190-203
- [5]. Husein Bidgolil, Akram Zamani, A., Henriksson, D., Taherzadeh, M. J. A new foaming technique for production of superabsorbents from carboxymethyl chitosan". *Carbohydrate Polymers*. 2010; 80(4): 1091-1101
- [6]. Boricha, A. G. dan Murthy, Z. V. P.. "Preparation of N, O-carboxymethyl chitosan acetate blend nanofiltration membrane and testing its performance in treating industrial wastewater". *Chemical Engineering Journal*. 2010; 157(2): 393-400
- [7]. Nada, A. M. A., El-Sakhawy, M., Kamel, S., Eid, M. A. M., dan Adel, A. M., Mechanical and electrical properties of paper sheets treated with chitosan and its derivatives" *Journal Carbohydrate Polymer*. 2006; 63 :113-121.
- [8]. Tungtong, S., Siriporn O, Sombat C, S. Solubility, viscoscity, and rheological properties of water-soluble chitosan derivates, *Maejo International Journal of Science and Technology*. 2012; 6(02) : 315-322.
- [9]. Mourya V. K., N. N. Inamdar and A. Tiwarki. Carboxymethyl chitosan and its application, *Advanced Materials Letters*. 2010 ; 1(1) : 11-33.
- [10]. Basmal J., A. Prasetyo dan Y. N. Fawzuya, , Pengaruh konsentrasi asam monokloro asetat terhadap karboksimetil kitosan yang dihasilkan, *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. 2005;11(8) : 1-9
- [11]. Rahmawati H dan Iskandar D. Sintesis karboksimetil kitosan terhadap pengaruh konsentrasi natrium hidroksida dan rasio kitosan dengan asam monokloro asetat. *Jurnal Teknologi Technoscintia*. 2014; 6(2):145-155
- [12]. Natalia S, Emma S, dan Karsono SP. Study of different operating condition during carboxymethyl chitosan synthesis. *The 14th International Conference on Quality in Research*, ISSN : 1411-1284. 2015
- [13]. Costa, C. N., Teixeira, V. G., Delpech, M. C., Souza, J. V. S., Costa, M. A. Viscometric study of chitosan solutions in acetic acid/sodium acetate and acetic acid/sodium chloride". *Carbohydrate polymers*, 2015;133: 245-250.
- [14]. Jonathan ZK, Mohammad RK, Tam Bui, Katherine AC. Characterization of deacetylated chitosan and chitosan molecular weight review. *Canadian Journal of Chemistry* . 1998; 76 (11) : 1699-1706
- [15]. Paramita, I.D., Dewi, R.P. and Prasetyaningrum, A., Kinetika reaksi hidrolisa Lmwcs (Low molecular weight chitosan) menggunakan asam klorida. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. 2012; I(1) :513-520