

Aktivitas Antibakteri Kitosan Hasil Sintesis dari Kitin Cangkang Kerang Hijau (*Perna viridis* L.) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Antibacterial Activities of Chitosan Synthesized from Chitin Isolated from Green Mussels (*Perna viridis* L.) Shell against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

Winda Trisna Wulandari*, Rizky Nur Alam, Ade Yeni Aprillia

Program Studi Farmasi, STIKes Bakti Tunas Husada
Jl. Cilolohan No. 36, Kota Tasikmalaya, Jawa Barat, Indonesia

*Corresponding author email: windatrisna@stikes-bth.ac.id

Received 23-07-2020 Accepted 02-10-2021 Available online 31-12-2021

ABSTRAK

Masyarakat masih belum memanfaatkan cangkang kerang hijau (*Perna viridis* L.) secara optimal, padahal senyawa kitin yang terkandung dalam limbah tersebut dapat dimodifikasi menjadi kitosan melalui reaksi kimia. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri kitosan dari limbah cangkang kerang hijau terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Kitosan dibuat melalui tiga proses yaitu deproteinasi, demineralisasi dan deasetilasi. Metode sumuran digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri dengan variasi konsentrasi kitosan 0,2; 0,4; 0,6 dan 0,8% (b/v). Kitosan yang diperoleh pada penelitian ini adalah sebanyak 59,3% dengan nilai derajat deasetilasi sebesar 74,34%. Kitosan dengan konsentrasi sebesar 0,8% (b/v) memberikan zona hambat sebesar 12,5 mm terhadap *Staphylococcus aureus* dan 16,5 mm terhadap *Escherichia coli*. Dengan demikian kitosan dari cangkang kerang hijau memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik terhadap *Escherichia coli* dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci: cangkang kerang hijau, *Escherichia coli*, kitosan, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

The utilization of green mussel (Perna viridis L.) shells waste is still limited. It contains chitin that can be chemically modified into the highly valuable chitosan. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of chitosan synthesized from chitin of green mussel shells waste against Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Chitosan was prepared through subsequent deproteination, demineralization, and

deacetylation processes. Disc diffusion method is used for testing antibacterial activity with variations in chitosan concentrations of 0.2, 0.4, 0.6 and 0.8% (w/v). Chitosan obtained in this study was 59.3% with deacetylation degree of 74.34%. Chitosan at a concentration of 0.8% (w/v) exerted diameter of inhibition zone of 12.5 mm for Staphylococcus aureus and 16.5 mm for Escherichia coli.

Keywords: chitosan, Escherichia coli, green mussel shells, Staphylococcus aureus

Pendahuluan

Indonesia memiliki potensi yang cukup besar pada bidang perikanan. *Crustacea* dan *Bivalvia* adalah salah satu komoditi terbesar dan banyak dicari baik di pasar lokal maupun internasional. Jenis dari golongan ini diantaranya adalah udang, kerang dan kepiting. Selain rasanya yang khas, masyarakat juga tertarik pada kandungan gizi nya yang tergolong cukup tinggi. Akan tetapi limbah cangkang dari golongan tersebut masih belum dimanfaatkan secara optimal sehingga dapat mencemari lingkungan (Handayani, Syahputra. 2017).

Salah satu sumber daya perikanan Indonesia yang banyak dikonsumsi adalah kerang hijau (*Perna viridis* L.) yang merupakan salah satu kerang yang dibudidayakan. Hal ini mengakibatkan limbah cangkang kerang menjadi bertambah dan berpotensi menimbulkan pencemaran lingkungan, padahal pada cangkang tersebut terdapat kitin yang dapat dimanfaatkan untuk pembuatan kitosan (Arsyi et al. 2018).

Kitosan merupakan polimer dari karbohidrat yang sangat berpotensi untuk dikembangkan terutama di

Indonesia. Saat ini kegunaan kitosan sangat banyak di berbagai bidang diantaranya bidang farmasi, kedokteran, industry, pangan, pertanian termasuk juga kosmetik. Kitosan juga diketahui memiliki aktivitas biologis yang baik, tidak bersifat toksik dan tidak menimbulkan alergi (Oktavia, Wibowo dan Fawzya. 2005)..

Beberapa penyakit banyak ditimbulkan akibat dari bakteri *Escherichia coli* diantaranya adalah infeksi diantaranya infeksi saluran kemih, pneumonia dan juga diare. Selain *E. coli*, *Staphylococcus aureus* juga dapat menyebabkan infeksi salah satunya yaitu pada kulit.

Kitosan dilaporkan sebagai antimikroba yang dapat menghambat bakteri patogen dan mikroorganisme diantaranya adalah jamur, bakteri gram positif dan negative (Hafdani and Sadeghinia 2011). Kitosan hasil sintesis dari kitin cangkang kerang hijau masih belum diketahui aktivitasnya terutama untuk antibakteri sehingga penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menentukan aktivitas antibakteri kitosan hasil isolasi dari kitin limbah cangkang kerang hijau pada bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Instrumen yang digunakan pada penelitian ini adalah Spektrofotometer FTIR (Shimadzu) untuk menentukan nilai DD dari kitosan yang dihasilkan. Bahan yang digunakan pada penelitian adalah cangkang kerang hijau yang berasal dari pedagang *seafood* di Kota Tasikmalaya, Jawa Barat yang dideterminasi di Laboratorium Sistemika Hewan, Fakultas Biologi, Universitas Gajah Mada. Bahan lain yang digunakan diantaranya adalah aqua demineral, *Nutrient Agar*, *Nutrient Broth*, *Mueller Hinton Agar* (diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi STIKes Bakti Tunas Husada), NaCl (Bratachem®), HCl (Bratachem®), CH₃COOH (Bratachem®), dan pH universal.

Jalannya Penelitian

1. Tahap deproteinasi

Sampel cangkang kerang hijau yang telah dibersihkan dan dikeringkan kemudian dihaluskan sampai diperoleh serbuk dengan ukuran mesh 60. Serbuk cangkang kerang hijau direaksikan dengan NaOH 3% perbandingannya adalah 3:1 (mL NaOH/gram cangkang). Refluks dilakukan selama 60 menit dengan suhu 80°C. Hasilnya disaring dan ditambahkan aqua demineral sampai dengan netral (Wulandari, Puspitasari, and Aprilia 2020).

2. Tahap demineralisasi

Hasil dari tahapan deproteinasi direfluks dengan HCl 1,25N perbandingannya 3:1 (mL HCl/gram

cangkang) pada suhu 75°C selama 1 jam. Kemudian, hasil refluks disaring dan residunya dinetralkan dengan menggunakan aqua demineral.

3. Tahap deasetilasi

Kitin yang dihasilkan dari proses demineralisasi direaksikan dengan larutan NaOH 50% pada perbandingan 20:1 (mL NaOH/gram kitin), kemudian direfluks selama 60 menit pada suhu 100°C. Setelah dingin, hasil deasetilasi disaring dan dinetralkan kemudian dikeringkan pada suhu 60°C (Dompeipen et al. 2016). Kitosan yang dihasilkan dikarakterisasi dengan menggunakan spektrofotometri FTIR untuk menentukan nilai derajat deasetilasinya. Persamaan yang dipakai untuk menentukan DD (*degree of deacetylation*) adalah sebagai berikut:

$$\% DD = \left(1 - \frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times \frac{1}{1.33}\right) \times 100\%$$

Dengan A_{1655} = Absorbansi pada panjang gelombang 1655 cm⁻¹, A_{3450} = Absorbansi pada panjang gelombang 3450 cm⁻¹, dan 1,33 = Faktor koreksi nilai dari A_{1655}/A_{3450} untuk kitosan yang sempurna proses deasetilasinya

4. Pengujian aktivitas antibakteri

Aktivitas antibakteri dari kitosan ditentukan dengan menggunakan metode sumuran (difusi agar). Pengujian ini dimulai dengan penyiapan media untuk pertumbuhan bakteri yaitu *Mueller Hinton Agar*. Media sebanyak 20 mL dimasukkan

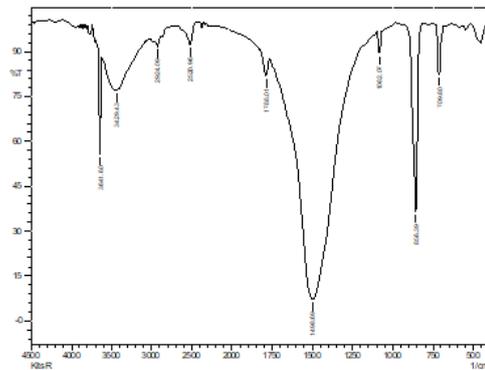
ke dalam cawan petri dan ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 0,2 mL, suspensi bakteri tersebut diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi STIKes Bakti Tunas Husada dan standard 0,5 Mc. Farland digunakan sebagai standar. Cawan digerakan secara memutar agar homogen. Kemudian, media dibiarkan memadat dan dibuat 4 lubang dengan jarak yang sama antar lubang. Kemudian larutan kitosan sebanyak 60 μ L dengan konsentrasi 0,2; 0,4; 0,6 dan 0,8%(b/v). Kitosan yang digunakan adalah kitosan 1% yang dilarutkan dalam asam asetat 2% (pH 4,4). Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Amoxicilin digunakan sebagai kontrol positif dengan konsentrasi 2,5% sedangkan kontrol negatif hanya larutan asam asetat saja.

Hasil dan Pembahasan

Hasil determinasi menunjukkan bahan yang digunakan adalah kerang hijau atau memiliki nama ilmiah *Perna viridis* L. Proses penghilangan protein dari cangkang kerang hijau atau deproteinasi ditandai dengan tidak terbentuknya warna ungu ketika direaksikan dengan pereraksi buret. protein yang terdapat pada cangkang kerang hijau akan bereaksi dengan NaOH menghasilkan Na-proteinat yang larut. Demineralisasi adalah proses penghilangan kandungan mineral yang ada pada cangkang kerang hijau salah satunya adalah kalsium. Tidak terbentuknya endapan putih ketika

direaksikan dengan asam oksalat menunjukkan cangkang kerang hijau sudah tidak mengandung mineral.

Proses deasetilasi dilakukan untuk menghilangkan gugus asetil (-COCH₃) kitin dan membentuk gugus amina (-NH₂) menjadi kitosan. Randemen kitosan yang diperoleh adalah sebesar 59,3% dengan nilai derajat deasetilasi sebesar 74,34%. Hasil pengujian FTIR dari kitosan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Spektrum FTIR dari kitosan

Nilai derajat deasetilasi kitosan yang dapat diaplikasikan adalah sebesar 40-98% (Ray 2011), sehingga kitosan yang dihasilkan dari limbah cangkang kerang hijau dapat digunakan untuk aplikasi di bidang farmasi. Nilai derajat deasetilasi kitosan dipengaruhi oleh konsentrasi NaOH, waktu reaksi dan suhu. Semakin banyak OH⁻ dalam larutan maka semakin besar gugus asetil yang dilepaskan dan mengakibatkan nilai derajat deasetilasi semakin besar.

Puncak pada bilangan gelombang 3641,60 cm⁻¹ adalah untuk gugus amina (-NH₂) primer pada kitosan sedangkan gugus hidroksil (-OH)

ditunjukkan pada bilangan gelombang 3429,43 cm^{-1} . Berdasarkan hasil spektrum FTIR, kitosan yang dihasilkan masih mengandung gugus -C=O yang ditunjukkan adanya vibrasi pada bilangan gelombang 1788,01 cm^{-1} , hal ini menunjukkan bahwa proses deasetilasi dari kitin menjadi kitosan masih belum sempurna karena kitosan secara struktur tidak memiliki gugus karbonil apabila sudah mengalami proses deasetilasi sempurna.

Bioaktivitas antioksidan (nilai IC_{50}) ekstrak etanol daun kembang bulan jika dibandingkan dengan nilai IC_{50} asam askorbat, memiliki bioaktivitas antiradikal yang berbeda yaitu sangat kuat. Hal ini dipengaruhi karena struktur dari asam askorbat memiliki karakteristik yang stabil dan dapat mendonorkan kedua hidrogen yang terikat pada gugus hidroksil terhadap radikal bebas sehingga membentuk struktur L- askorbil yang stabil. Hal ini mendukung bioaktivitas dari asam askorbat lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak etanol daun kembang bulan (Fitriansyah et al., 2017).

Pengujian aktivitas antibakteri dari kitosan terhadap *S. aureus* dan *E. coli* menggunakan metode sumuran. Diameter zona hambat dari kitosan dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri dari kitosan, semakin tinggi konsentrasi kitosan, aktivitas antibakterinya juga semakin meningkat baik pada bakteri *S. aureus* maupun pada *E. coli*. Kitosan 0,8% memberikan zona hambat sebesar 12,5 mm pada *S. aureus*

dan 16,5 mm pada *E. coli*. Aktivitas antibakteri kitosan pada bakteri *E. coli* lebih baik bila dibandingkan dengan *S. aureus*, hal ini dikarenakan lapisan terluar fosfolipid dan lipopolisakarida pada gram negatif lebih tebal dibandingkan dengan gram positif (Jubeh, Breijyeh, and Karaman 2020), kitosan sendiri merupakan senyawa dengan rantai panjang yang cenderung bersifat lipofil sehingga dapat dengan mudah menembus dinding sel bakteri gram negatif. Kitosan dapat berpenetrasi ke dalam dinding sel bakteri yang kemudian akan bergabung dengan DNA dari bakteri tersebut sehingga menghambat mRNA dan transkripsi DNA (Yudhasmita, Nugroho. 2017).

Tabel 1. Aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*

Kelompok	Diameter zona hambat (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Kontrol negatif	0	0
Kontrol positif (Amoxicillin)	21	32
Kitosan 0,2%	0	7,5
Kitosan 0,4%	6	12
Kitosan 0,6%	10	14,5
Kitosan 0,8%	12,5	16,5

Kesimpulan

Kitosan hasil sintesis dari kitin cangkang kerang hijau memiliki nilai derajat deasetilasi sebesar 74,34% dengan nilai randemen 59,3%. Aktivitas antibakteri kitosan pada *S. aureus* dan *E. coli* dengan zona hambat sebesar 12,5 dan 16, 5 mm secara berurutan pada konsentrasi kitosan 0,8%. Kitosan dari cangkang kerang hijau lebih baik dalam

menghambat aktivitas bakteri *E. coli* dibandingkan dengan *S. aureus* pada konsentrasi yang sama.

Daftar Pustaka

- Arsyi, Nita Zul et al. 2018. "Karakterisasi Nano Kitosan Dari Cangkang Kerang Hijau Dengan Metode Gelasi Ionik." 2(2): 106–11.
- Dompeipen, Edward J et al. 2016. "Isolasi Kitin Dan Kitosan Dari Limbah Kulit Udang." 092.
- Hafdani, F Nejadi, and N Sadeghinia. 2011. "A Review on Application of Chitosan as a Natural Antimicrobial." 5(2): 46–50.
- Jubeh, Buthaina, Zeinab Breijyeh, and Rafik Karaman. 2020. "Resistance of Gram-Positive Bacteria to Current Antibacterial Agents and Overcoming Approaches." *Molecules* 25(12): 1–22.
- Oktavia, Wibowo dan Fawzya. 2005. "Pengaruh Jumlah Monokloro Asetat terhadap Karakteristik Karboksimetil Kitosan dari Kitosan Cangkang dan Kaki Rajungan". 11(4): 79-88.
- Handayani, Syahputra. 2017. "Isolasi Dan Karakterisasi Nanokalsium Dari Cangkang Tiram (*Crassostrea gigas*)." 20: 515–23.
- Yudhasasmita, Nugroho. 2017. "Sintesis Dan Aplikasi Nanopartikel Kitosan Sebagai Adsorben Cd Dan Antibakteri Koliform." 5(1):42-48.
- Ray, Sarbani D E Y. 2011. "REVIEW POTENTIAL ASPECTS OF CHITOSAN AS PHARMACEUTICAL EXCIPIENT." 68(5): 619–22.
- Wulandari, Winda Trisna, Resna Puspitasari, and Ade Yeni Aprilia. 2020. "Antioxidant Activity of Chitosan from the Waste of Green Mussels Shell (*Perna viridis* L)." 26: 33–35.