



Aktivitas Antibakteri Kitosan dari Cangkang Lobster Air Tawar (*Cherax quadricarinatus*) terhadap *Staphylococcus aureus*

Anisa Pebiansyah, Anna Yuliana*

Prodi Farmasi STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya

*Corresponding author: anna_yuliana@stikes-bth.ac.id

Abstract

Introduction: Freshwater lobster shells contain chitin which can be used as an ingredient for making chitosan. Chitosan is a polysaccharide that has the potential to inhibit bacterial growth. **Objective:** To study the activity of chitosan from freshwater crayfish shells as an antibacterial against *Staphylococcus aureus*. **Methods:** This research was conducted by isolating chitosan from freshwater crayfish shells through four stages, namely deproteinization, demineralization, depigmentation, and deacetylation. The chitosan formed was analyzed using an FTIR Spectrophotometer. The chitosan from the analysis was then tested for its activity against *Staphylococcus aureus* with the activity equivalence test method using Tetracycline HCl as a comparison. **Results:** The yields obtained from refining chitin into chitosan include deproteinization (94.12%), demineralization (60.85%), depigmentation (51.35%), deacetylation (18.82%). The results of the characteristics of the FTIR spectrophotometer showed the Deacetylation Degree (DD) of chitosan based on the baseline method of 63.36%. Based on the results of testing the activity of chitosan from crayfish shells, around the hole there is a clear zone ranging from a concentration of 30% to 100% which indicates that chitosan from crayfish shells has an antibacterial inhibitory power at the smallest concentration at 30% and the minimum inhibitory concentration is 29%. The concentration of chitosan 29% w/v can inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria. In the equivalence test of freshwater crayfish shell chitosan activity, a concentration of 29% w/v of chitosan from freshwater crayfish shells had antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* which was equivalent to the standard concentration of Tetracycline HCl = 21.9796 µg/mL. **Conclusion:** Chitosan from freshwater crayfish shells has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* at a minimum concentration of 29%.

Keywords: Lobster shell, chitosan, FTIR spectrophotometer analysis, *Staphylococcus aureus*

Abstrak

Pendahuluan: Cangkang lobster air tawar mengandung kitin yang dapat digunakan sebagai bahan pembuatan kitosan. Kitosan merupakan suatu polisakarida yang berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri. **Tujuan:** Menelaah aktivitas kitosan dari cangkang kulit lobster air tawar sebagai antibakteri pada *Staphylococcus aureus*. **Metode:**

Penelitian ini dilakukan dengan mengisolasi kitosan dari cangkang lobster air tawar melalui empat tahap, yaitu deproteinasi, demineralisasi, depigmentasi dan deasetilasi. Kitosan yang terbentuk dianalisis menggunakan spektrofotometer FTIR. Kitosan hasil analisis kemudian diuji aktivitasnya terhadap *Staphylococcus aureus* dengan metode uji kesetaraan aktivitas dengan menggunakan pembanding Tetrasiklin HCl.

Hasil: Rendemen yang diperoleh dari pemurnian kitin menjadi kitosan di antaranya deproteinasi (94,12%), demineralisasi (60,85%), depigmentasi (51,35%), deasetilasi (18,82%). Hasil analisis spektrofotometer FTIR menunjukkan Derajat Deasetilasi (DD) kitosan metode base line sebesar 63,36 %. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas kitosan dari cangkang lobster air tawar, di sekitar lubang terdapat zona bening mulai dari konsentrasi 30% b/v sampai 100% b/v yang menunjukkan



bahwa kitosan dari cangkang lobster air tawar memiliki daya hambat sebagai antibakteri pada konsentrasi terkecil pada 30% dan konsentrasi hambat minimumnya adalah 29%. Konsentrasi kitosan 29% b/v dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada uji kesetaraan aktivitas kitosan cangkang lobster air tawar, konsentrasi 29% b/v kitosan dari cangkang lobster air tawar mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* yang setara dengan konsentrasi baku Tetrasiklin HCl = 21,9796 µg/mL. **Kesimpulan:** Kitosan dari cangkang lobster air tawar mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi minimum 29%

Kata Kunci : Cangkang lobster, kitosan, analisis spektrofotometer FTIR, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Lobster merupakan salah satu komoditas perikanan Indonesia yang melimpah. Pada umumnya, lobster dimanfaatkan tanpa kepala dan kulit. Hal itu menyebabkan limbah yang cukup bervariasi, yang berkisar antara 65-85% dari berat lobster tergantung dari jenisnya (Agustina *et al.*, 2015). Limbah lobster padat biasanya hanya dimanfaatkan sebagai campuran pakan ternak dan tanpa disadari bahwa limbah lobster tersebut mengandung kitin sebagai bahan pembuat kitosan yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri (Magani *et al.*, 2020).

Limbah udang lobster merupakan sumber kitin, kitosan yang sangat potensial. Kitin dapat diolah dari kulit udang lobster dengan cara diisolasi menggunakan proses deproteinasi dan demineralisasi (Purnavita and Rahayu, 2007). Kitin dan kitosan merupakan polimer karbohidrat yang mempunyai banyak kegunaan, antara lain sebagai bahan tambahan makanan yang berfungsi untuk mempertahankan tekstur makanan dan pengemulsi makanan yang baik. Di bidang kedokteran digunakan sebagai bahan untuk mempercepat penyembuhan luka, krim penghalus kulit dan sebagai bahan benang bedah (Azizati, 2019).

Mengingat kitosan memiliki banyak manfaat, maka peneliti bertujuan untuk mengisolasi kitosan dari cangkang lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*) yang kemudian akan diuji aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus*.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah cangkang lobster air tawar, NaOH 3,5% (Brataco), HCl 1 N (Brataco), NaOCl 0,315% (Brataco), aquadest (Brataco), NaOH 50% (Brataco), bakteri *Staphylococcus aureus* (ATCC 65383), agar mueller hinton (Sigma Aldrich), tetrasiklin HCl (Sigma Aldrich).

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah oven (Memmert), blender (Maspion), ayakan mesh 60, labu alas bulat (Pyrex), seperangkat alat refluks (Pyrex), spektrofotometer FTIR, cawan petri, mikropipet (Accumax Lab Technology), tabung durham, incubator (Memmert), autoklaf.

Metode

Preparasi sampel cangkang lobster

Cangkang lobster dibersihkan dengan air dingin dan mengalir hingga bersih. Setelah itu dibersihkan kembali menggunakan air panas. Cangkang yang sudah di cuci dikeringkan menggunakan oven pada suhu 65°C selama ± 2 jam. Cangkang yang sudah kering didinginkan dan di blender sampai halus. Serbuk yang diperoleh kemudian di ayak menggunakan ayakan mesh 60.

Pemurnian kitin

Deproteinasi

Sebanyak 120 g serbuk cangkang lobster dimasukkan ke dalam labu alas bulat. Setelah itu ditambahkan 1200 ml larutan NaOH 3,5% dengan perbandingan 1:10 (b/v). Sampel dipanaskan dan sambil diaduk menggunakan pengaduk magnetik selama 2 jam pada temperatur 65°C. Setelah dingin, disaring dan dinetralkan dengan aquadest. Padatan yang diperoleh dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C sampai berat konstan.

Demineralisasi

Serbuk kering hasil deproteinasi ditambah larutan HCl 1 N dengan perbandingan 1:15 (b/v) dalam labu alas bulat 500 ml. Direfluks pada suhu 40°C selama 30 menit. Setelah itu dikeringkan dan dibiarkan hingga dingin kemudian disaring. Padatan yang diperoleh dinetralkan dengan aquadest dan dikeringkan pada suhu 60°C di dalam oven sampai berat konstan.

Depigmentasi

Serbuk hasil demineralisasi ditambah larutan NaOCl 0,315% dengan perbandingan 1:10 (b/v) dalam labu alas bulat. Di refluks selama 1 jam pada suhu 40°C. Padatan disaring dan dinetralkan dengan aquadest. Padatan hasil penetraran dikeringkan pada suhu 80°C di dalam oven sampai berat konstan.

Deasetilasi

Sebanyak 50 gram kitin dimasukkan ke dalam wadah dan ditambah 500mL NaOH 50% dengan perbandingan 1:10 (b/v). Diaduk sambil dipanaskan pada suhu 100°C selama 30 menit. Setelah dingin, dicuci dengan aquades sampai netral dan dikeringkan pada suhu 65°C di dalam oven sampai berat konstan.

Analisis kitosan

Kitosan yang terbentuk dianalisis dengan menggunakan FTIR di Lab oratorium Teknik Kimia, ITB, Bandung untuk mengetahui Derajat Deasetilasi (DD) (Hargono,2008).

Uji aktivitas antibakteri cangkang lobster air tawar

Bakteri *Staphylococcus aureus* dipipet sebanyak 0,2 ml dan masukkan ke dalam masing-masing cawan petri yang sudah di sterilkan kemudian tambahkan 20 ml media agar mueller hinton yang sudah steril. Cawan petri digerakkan dengan gerakan memutar supaya media agar menyatu dengan bakteri *Staphylococcus aureus* hingga homegen dan dibiarkan mengering. Setelah kering, pada tiap cawan petri dibuat lubang kecil sebanyak 4 lubang dalam media menggunakan tabung durham. Masukkan 50 μ l larutan kitosan ke dalam tiap lubang dengan konsentrasi yang berbeda. Cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Diameter yang terbentuk berupa zona bening dan dilakukan pengukuran terhadap zona bening tersebut (Budiman *et al.*, 2015; Budiman *et al.*,2018).

Uji kesetaraan aktivitas dengan pembanding tetrasiklin HCl terhadap *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* dipipet sebanyak 0,2 ml dan masukkan ke dalam masing-masing cawan petri yang sudah di sterilkan kemudian tambahkan 20 ml media agar mueller hinton yang sudah steril. Cawan petri digerakkan dengan gerakan memutar supaya media agar menyatu dengan bakteri *Staphylococcus aureus* hingga homegen dan dibiarkan mengering. Setelah kering, pada tiap cawan petri dibuat lubang kecil sebanyak 4 lubang dalam media menggunakan tabung durham. Masukkan 50 μ l larutan Tetrasiklin HCl ke dalam tiap lubang dengan konsentrasi yang berbeda. Cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Diameter yang terbentuk berupa zona bening dan dilakukan pengukuran terhadap zona bening tersebut (Budiman *et al.*, 2015; Budiman *et al.*,2018).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan isolasi kitosan dari limbah cangkang lobster air tawar melalui 4 tahap, yaitu deproteinasi, demineralisasi, depigmentasi dan deasetilasi hingga

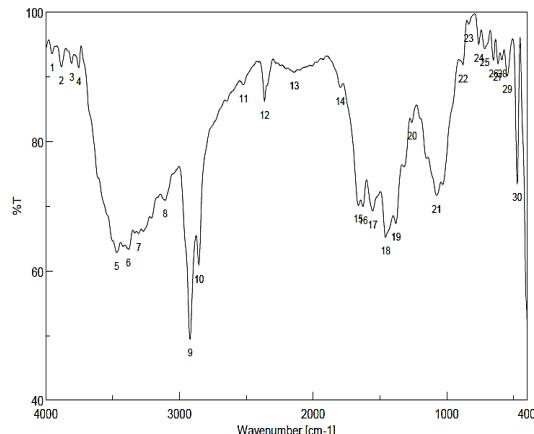
diperoleh kitosan murni dengan rendemen 18,82% (Tabel 1)

Tabel 1. Hasil hitungan rendemen proses pemurnian kitin menjadi kitosan

Proses	% Rendemen	Hasil
Deproteinasi	94,12%	Kitin
Demineralisasi	60,85%	Kitin
Depigmentasi	51,35%	kitin
Deasetilasi	18,82%	Kitosan

Karakteristik kitosan dengan spektrofotometer FT-IR

Kitosan yang dihasilkan dari cangkang lobster air tawar di karakteristik dengan spektrometer FT-IR untuk mengidentifikasi gugus-gugus fungsional pada sampel hasil pemurnian(Mardiana *et al.*, 2021). Berdasarkan hasil spektrum FTIR pada Gambar 1, serapan kitosan terdapat pada bilangan gelombang 3752,8cm⁻¹ yang menunjukkan adanya OH bebas atau tidak adanya ikatan hidrogen. Pita OH bebas ini memiliki intensitas yang lebih rendah dari pada pita OH terikat sedangkan absorpsi OH terikat memiliki pita yang agak lebar dan intensitasnya kuat . Serapan pada 3471,24cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus amin terikat yang memiliki intensitas yang lemah karena adanya hidrogen. Pada serapan 3382,53 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus fungsi C=C–H. Pada serapan 3108,69cm⁻¹ menunjukkan serapan adanya gugus fungsi CH. Selanjutnya pada serapan 1797,33cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus fungsi C=O karena mengabsorpsi pada daerah spektrum 1900-1650. Selain itu pula teridentifikasi gugus C=C aromatik pada serapan 1662,34cm⁻¹ (Tabel 2).



Gambar 1. Hasil spektrum FTIR cangkang lobster air tawar

Derajat Deasetilasi (DD) kitosan dapat ditentukan berdasarkan spektrum IR dengan metode baseline. Berdasarkan hasil perhitungan, diperoleh Derajat Deasetilasi (DD) sebesar 63,36%. Semakin besar derajat deasetilasi maka menunjukkan semakin banyak gugus asetyl kitin yang dirubah menjadi gugus amin yang membentuk kitosan. Gugus amin kitosan ini baik dalam bentuk NH₂ ataupun dalam bentuk keadaan terprotonasi NH₃⁺ mampu mengabsorbsi logam-logam berat melalui mekanisme pembentukan kelat.

Uji aktivitas kitosan dari cangkang lobster air tawar dengan menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus*

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode difusi agar. Pengujian menggunakan deretan konsentrasi 100% sampai 10% (Tabel 3).

Tabel 2. Hasil data analisis FT-IR

Jenis vibrasi	Daerah spektrum	Bilangan gelombang
OH (Stretching)	3750-3000	3752,8 cm ⁻¹
OH terikat	3450-3200	3305,39 cm ⁻¹
NH (-NH ₂) (Stretching)	3500-3100	3471,24 cm ⁻¹
-C=C-H (Stretching)	3300 – 2900	3382,53 cm ⁻¹
CH (CH ₂)	3000 – 2700	3108,69 cm ⁻¹
C = O (stretching)	1900-1650	1797,33 cm ⁻¹
C = C aromatik (stretching)	1675-1500	1662,34 cm ⁻¹

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antibakteri kitosan cangkang lobster terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi (%)	Diameter zona bening kitosan
100 %	11,01 mm
90 %	8,5 mm
80 %	8,3 mm
70 %	7,4 mm
60 %	7,1 mm
50 %	6,8 mm
40 %	6,4 mm
30 %	5,4 mm
20 %	-
10 %	-
0 %	-

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa kitosan dari cangkang lobster air tawar mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan adanya zona bening pada sekitar lubang yaitu pada konsentrasi terkecil 30% sampai konsentrasi terbesar 100% dengan diameter zona bening dapat dilihat pada Tabel 3. Pada konsentrasi kitosan terkecil 30%, menghasilkan diameter zona bening 5,4 mm. Diameter ini lebih besar dibandingkan dengan kontrol negatif asam asetat 2% sebesar 2,6 mm.

Kitosan mengandung gugus asam amino bebas yang bermuatan positif yang dapat mengikat muatan negatif dari bakteri yaitu dengan merusak struktur-struktur utama dari sel bakteri (Rismawati, Hasri and Sudding, 2020). Kitosan mempunyai protein untuk mengikat banyak komponen seperti protein,

muatan positif dari gugus NH₃⁺ yang berinteraksi dengan muatan negatif pada permukaan sel bakteri sehingga dapat merusak dinding sel bakteri yang dapat menyebabkan lemahnya dinding sel dan mengakibatkan bentuk sel menjadi abnormal dan pori-pori dinding sel membesar sehingga mengakibatkan dinding sel tidak bisa mengatur pertukaran dari luar sel ke dalam sel sehingga membran sel menjadi rusak dan mengalami lisis sehingga aktivitas metabolisme bakteri akan terhambat dan pada akhirnya akan mengalami kematian (Srijanto, 2003).

Konsentrasi hambat minimum kitosan dengan menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus*

Dari hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, dilakukan penentuan konsentrasi hambat minimum untuk mengetahui konsentrasi terendah dari kitosan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan hasil pengujian, konsentrasi hambat minimum dari kitosan cangkang lobster air tawar adalah konsentrasi 29%. Oleh karena itu, pembuatan pengenceran sebagai antibakteri dari cangkang lobster air tawar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* bisa digunakan pada konsentrasi 29% karena pada konsentrasi tersebut kitosan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sedangkan pada konsentrasi 28%-20% tidak terdapat zona bening yang berarti pada konsentrasi tersebut kitosan tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Tabel 4. Hasil konsentrasi hambat minimum kitosan menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi (%)	Diameter zona bening kitosan
29 %	8,2 mm
28 %	-
27 %	-
26 %	-
25 %	-
24 %	-
23 %	-
22 %	-
21 %	-
20 %	-

Keterangan :

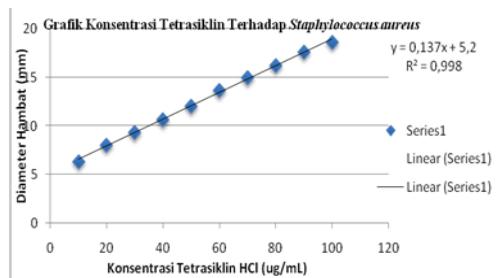
- Diameter lubang 4mm
- Diameter blanko (asam asetat 2%) 2,6 mm

Penetapan kesetaraan aktivitas kitosan cangkang lobster air tawar dengan antibiotik pembanding

Penetapan kesetaraan aktivitas kitosan cangkang lobster air tawar untuk aktivitas antibakterinya menggunakan baku pembanding Tetrasiklin HCl. Uji kesetaraan diperoleh dengan membandingkan respons berupa hambatan pertumbuhan bakteri dari zat uji kitosan terhadap respons dari baku pembanding Tetrasiklin HCl pada kondisi yang sama. Hasil dari pengamatan dibuat kurva baku dengan data konsentrasi Tetrasiklin HCl pada sumbu x (g/mL) dan diameter hambat Tetrasiklin HCl terhadap bakteri uji (mm) pada sumbu y. Kurva digunakan untuk menghitung konsentrasi zat uji yang memiliki aktivitas antibakteri dengan cara menarik garis lurus yang memotong kurva baku dari diameter hasil pengamatan sehingga diperoleh konsentrasi sebenarnya dari zat uji (Tabel 5 dan Gambar 2).

Tabel 5. Hasil pengujian aktivitas antibakteri tetrasiklin HCl terhadap *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi Tetrasiklin HCl (µg/ml)	Diameter Hambat (mm)
0	0
10	6,35
20	8,05
30	9,35
40	10,65
50	12,05
60	13,64
70	14,94
80	16,24
90	17,64
100	18,64



Gambar 2. Grafik konsentrasi tetrasiklin HCl terhadap *Staphylococcus aureus*

Nilai banding kitosan cangkang lobster air tawar terhadap baku pembanding Tetrasiklin HCl dihitung menggunakan persamaan pada kurva baku Tetrasiklin HCl. Data pada Tabel 4 pada konsentrasi 29% b/v, diameter hambat kitosan cangkang lobster air tawar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dihitung nilai $x = 21,9796$. Jadi dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi 29% b/v kitosan cangkang lobster air tawar mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* yang setara dengan konsentrasi baku Tetrasiklin HCl = 21,9796 µg/ml.



KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kitosan dari cangkang lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 29% dengan diperoleh diameter zona bening 8,2mm. Konsentrasi tersebut setara dengan antibiotik tetrasiklin HCl sebesar 21,9796 µg/ml.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu selama penelitian ini berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, S., Swantara, I. and Suartha, I. (2015) 'Isolasi Kitin, Karakterisasi, Dan Sintesis Kitosan Dari Kulit Udang', *Jurnal Kimia*, 9(2), pp. 271–278.
- Azizati, Z. (2019) 'Pembuatan Dan Karakterisasi Kitosan Kulit Udang Galah', *Walisongo Journal of Chemistry*, 2(1), p. 10.
- Budiman, A. et al. (2015) 'Activity Test of Lemon Essential Oil (*Citrus limon Burm.*) Shampoo Gel as Antidandruff against Fungus *Malassezia* sp.', *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 2(2), pp. 68–74.
- Budiman, A., Rusnawan, D. W. and Yuliana, A. (2018) 'Antibacterial activity of piper betle L. Extract in cream dosage forms against *Staphylococcus aureus* and *propionibacterium acne*', *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(3), pp. 493–496.
- Iskandar Kanna, 2006, *Lobster (Pembenihan, Penangkapan, Pembesaran)* Kasinus, Yogyakarta.Jakarta : binarupa aksara :hal :103.
- Magani, A. K., Tallei, T. E. and Kolondam, B. J. (2020) 'Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*', *Jurnal Bios Logos*, 10(1), p. 7.
- Mardiana, U. et Al. (2021) 'Isolasi Dan Karakterisasi Kitosan Pada Kerang Darah (*Anadara granosa*)', 1, pp. 1–9.
- Minda dkk, 2010, Pengaruh Konsentrasi NaOH dan KOH Terhadap Derajat Dasetilasi Kitin Dari Limbah Kulit Udang Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Padang. Petasik, 2005 Pembenihan Lobster Air Tawar Lokal Papua.Penebar swadaya. Jakarta.
- Purnavita, S. and Rahayu, L. H. (2007) 'Optimasi Pembuatan Kitosan Dari Kitin Limbah Cangkang Rajungan (*Portunus pelagicus*) Untuk Adsorben Ion Logam Merkuri', *Reaktor*, 11(1), pp. 45–49.
- Rismawati, Hasri and Sudding (2020) 'Kitosan Asetat Cangkang Bekicot (*Achatina Fulica*) Sebagai Antibakteri Pada Kain Katun', *Jurnal Sainsmat*, 9(1), pp. 45–56.