AKTIVITAS ANTIBAKTERI KITOSAN TERHADAP BAKTERI *S.aureus*

Mardiyah Kurniasih, Dwi Kartika

Program Studi Kimia, Jurusan MIPA

Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

ABSTRACT

Chitosan is the N-deacetylated derivative of chitin. Chitosan is biodegradable, biocompatible and non-toxic. Chitosan is polycationic in acidic media and give antibacterial activity. In this paper, antibacterial activity of chitosan have been studied.

Chitosan had been isolated from white shrimp. Antibacterial activity of chitosan solutions was examined against *S. aureus*. The result showed that antimicrobial effect on *S. aureus* was strengthened as the chitosan concentrate decreased.

Keywords: chitosan, antibacterial test, *S. aureus*

PENDAHULUAN

Kitosan yang tiap tahunnya dihasilkan 100 trilyun ton oleh crustacea, mollusca, insekta, fungi dan diperkirakan kelimpahannya paling banyak nomor dua setelah selulosa (Lim, 2002 ; Gylieñe et al., 2003 ; Kim, 2004 ; Fouda, 2005 ; Shanmugasundaram, 2006). Disamping itu, pemanfaatan kitosan merupakan suatu upaya meningkatkan nilai tambah produk hasil perairan seperti udang dan kepiting sekaligus mengatasi masalah karena udang dan kepiting menghasilkan limbah berupa kulit/cangkang yang selama ini kurang dimanfaatkan (Yamazaki, 2007).

Kitosan merupakan biopolimer yang diperoleh dari deasetilasi kitin. Kitosan terdiri dari poli (2-deoksi-2-asetilamin-2-glukosa) dan poli (2-deoksi-2-aminoglukosa) yang berikatan secara (1-4) β -glikosidik, struktur kitosan tersaji pada Gambar 1 (Tolaimatea et al., 2003)

Gambar 1 Struktur kitosan (DA adalah derajat deasetilasi)

Penggerak utama pengembangan aplikasi-aplikasi baru kitosan adalah peranannya sebagai polimer kationik yang secara ekonomis dapat diproses secara alami dari kitin yang melimpah, tetapi tidak beracun, dapat didaur ulang dan ramah lingkungan (Rege dan Lawrence, 1999). Akhir-akhir ini kitosan banyak dimanfaatkan dalam beragam industri.

Kitosan merupakan polimer kationik yang bersifat nontoksik, dapat mengalami biodegradasi dan bersifat biokompatibel. Kitosan juga memiliki kegunaan yang sangat luas dalam kehidupan sehari-hari misalnya sebagai adsorben limbah logam berat dan zat warna, pengawet, antijamur, kosmetik, farmasi, flokulan, antikanker, dan antibakteri. Kitosan dapat aktif dan berinteraksi dengan sel, enzim atau matrik polimer yang bermuatan negatif (Stephen, 1995) serta sebagai bahan antibakteri (Lim et al., 2002; No et al., 2002).

Menurut Fernández et al. (2006) kitosan memberikan aktivitas antibakteri (*E. coli*, *S. aureus*, *Pseudomona aeruginosa* dan *Salmonella paratyphi B*). Kemampuan kitosan mengkoagulasi dan membentuk kompleks dengan DNA,

menyebabkan mekanisme antara sel dan gugus kationik pada polimer kitosan masih perlu dikaji lebih lanjut (Dunn *et al.*, 1992).

Performance sifat-sifat kitosan sangat dipengaruhi oleh dua parameter penting yaitu: derajat deasetilasi (DD) dan berat molekul (BM). Besarnya DD dan BM ini sangat dipengaruhi oleh konsentrasi basa, temperatur, waktu dan pengulangan proses selama pembentukan kitosan.

Pada penelitian ini mengkaji aktivitas antibakteri kitosan terhadap bakteri *S. aureus*.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah: kulit udang putih, HCl, NaOH, NaOCl, kultur murni bakteri *S. aureus* ATCC 25293, nutrisi cair (NB), nutrisi padat (NA), akuades dan akuabides.

Peralatan yang digunakan meliputi: mortar, blender, ayakan 100 mesh, seperangkat alat refluks, oven, timbangan analitik Mettler AE200, kurs porselin, spritus, vortex, autoklaf, ose, cawan petri, pipet mikro 1 mL, pipet ukur, dan inkubator.

Cara Kerja

Kulit udang yang lolos 100 mesh direaksikan dengan NaOH untuk deproteinase, demineralisasi dengan HCl, pemutihan menggunakan NaOCl dan deasetilasi sebanyak tiga kali menggunakan NaOH. Kitosan hasil sintesis ditentukan derajat dan berat molekulnya.

Uji antibakteri terlebih dahulu dilakukan pada larutan asam asetat, sebagai kontrol aktivitas antibakteri larutan kitosan. Mengacu pada Liu *et al.* (2006), kondisi uji dibuat dua set yaitu uji dengan asam asetat dan tanpa asam asetat (hanya NB) sebagai kontrol. Tujuh variasi konsentrasi asam asetat (50, 100, 150, 200, 250, 300 dan 350 ppm) dibuat.

Setiap konsentrasi asam asetat dibuat 25 mL dengan 15 mL NB dan 5 mL kultur bakteri *S. aureus* 10^8 CFU/mL. Efek asam asetat terhadap pertumbuhan *S. aureus* pada jam ke-0, 24 dan 48 dimonitor dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 460nm dan diukur CFU/mL dari bakteri yang masih hidup dengan *plating technique*. Kontrol pertumbuhan bakteri *S. aureus* dalam media NB juga dihitung.

Sampel kitosan dilarutkan dalam asam asetat dengan variasi konsentrasi [1,4; 1,0; 0,6; 0,4; 0,2; 0,1 dan 0,05% (b/v)]. Sampel-sampel kitosan termasuk asam asetat sebanyak 25 mL ditambah kultur bakteri *S. aureus* 10^8 CFU/mL masing-masing 5 mL. Campuran kemudian diinkubasi pada 37 °C. Efek konsentrasi kitosan terhadap pertumbuhan *S. aureus* pada jam ke-0, 24 dan 48 dimonitor dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 460nm dan diukur CFU/mL dari bakteri yang masih hidup dengan *plating technique*. Sebagai kontrol media digunakan pertumbuhan bakteri *S. aureus* dalam media NB yang juga dihitung dengan cara yang sama. Semua dilakukan secara duplo.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kitosan yang dihasilkan dari isolasi serbuk kulit udang berwarna coklat muda seberat 15,69% dari berat serbuk udang yang digunakan. Perhitungan derajat deasetilasi dengan spektra IR dapat menggunakan metode baseline *a* dan *b* yang diusulkan oleh Baxter pada Khan (2002). Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh derajat deasetilasi kitosan hasil sintesis adalah 87,50 untuk metode baseline *a* dan 96,50 untuk metode baseline *b*. Nilai baseline *b* lebih tinggi daripada baseline *a*, hal ini serupa dengan yang uraikan oleh Khan (2002). Semakin tinggi derajat deasetilasi maka semakin banyak jumlah gugus amina pada kitosan, sehingga jumlah gugus amina yang

terprotonasi dalam kondisi asam juga meningkat dan akhirnya dapat larut sempurna, selain itu akan meningkatkan peluang kitosan berinteraksi dengan muatan negatif pada dinding sel mikroorganisme.

Viskosimetri merupakan metode paling mudah dan cepat untuk menentukan berat molekul (Dunn *et al.*, 1992). Dari hasil perhitungan diperoleh berat molekul kitosan hasil isolasi sebesar 176634,4 Da untuk derajat deasetilasi hasil perhitungan dengan baseline *a* dan 129177,0 Da untuk derajat deasetilasi hasil perhitungan dengan baseline *b*. Berat molekul sangat berkaitan dengan kelarutan kitosan dalam asam asetat,

kelarutan akan turun ketika berat molekul besar.

Menurut Liu *et al.* (2006) asam asetat memiliki aktivitas antibakteri. Oleh karena itu, ketika digunakan sebagai pelarut kitosan maka peran serta asam asetat tidak dapat diabaikan. Dalam penelitian ini dikaji pengaruh konsentrasi asam asetat terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan hasil yang diperoleh disajikan dalam Gambar 3.

Gambar 3 Pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada larutan asam asetat (*Inset*: pertumbuhan bakteri pada larutan asam asetat 250 ppm, 300 ppm dan 350 ppm, skala 0-2.10⁷ CFU/mL)

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan semakin besar konsentrasi asam asetat maka semakin besar aktivitas antibakteri. Berdasarkan hasil tersebut sebaiknya untuk memanfaatkan kitosan dalam uji bakteri digunakan pelarut asam asetat dengan konsentrasi kurang dari 100 ppm.

Larutan kitosan dilarutkan dalam asam asetat dengan bervariasi konsentrasi selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri. Hasil yang diperoleh disajikan dalam Gambar 2.

Berdasarkan Gambar 2 dapat disimpulkan semakin besar konsentrasi larutan kitosan semakin kecil aktivitas antibakteri yang diberikan.

Gambar 2 Pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada (a). Variasi larutan kitosan dan kontrol media NB, (b) variasi larutan kitosan

Beberapa mekanisme penghambatan mikroba oleh kitosan telah diusulkan beberapa peneliti, tetapi mekanisme yang pasti sampai saat ini belum diketahui. Mekanisme yang paling banyak diterima adalah interaksi muatan positif kitosan dengan muatan negatif pada permukaan bakteri, yang menyebabkan perubahan permeabilitas permukaan sel. Hal ini akan menyebabkan hilangnya beberapa penyusun sel seperti protein, asam amino dan glukosa. Alhasil kitosan akan menghambat metabolisme mikroorganisme dan akhirnya mengakibatkan kematian sel. Kemungkinan mekanisme yang lain adalah muatan positif kitosan berinteraksi

dengan DNA bakteri, yang mengakibatkan terhambatnya sintesis RNA dan protein. Pada mekanisme ini, kitosan harus mempunyai berat molekul kecil agar dapat masuk dalam sel mikroorganisme.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh semakin kecil konsentrasi kitosan akan memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* yang semakin besar.

DAFTAR PUSTAKA

- Dunn, E. T.; Li, Q.; Grandmaison, E. W. dan Goosen, M. F. A, 1992, Applications and Properties of Chitosan, *J. Bioact. Compat. Polym.*, 7, 370.
- Fernández, M.; Plessing, C.V. dan Cárdenas, G., 2006, Preparation and characterization of chitosan gels, *J. Chil. Chi. Soc.*, 51, 1022-1024.
- Fouda, M. M. G., (2005), *Use of Natural Polysaccharides in Medical Textile Applications*, (disertasi) Fachbereich Chemie Universitat Duisburg-Essen, Germany.
- Gyliene, O., Inga R., Rima, T. and Ona, N., (2003), Chemical Composition and Sorption Properties of Chitosan Produced from Fly Larva Shells, *Chemija (Vilnius)*, 14(3), 121-127.
- Khan, T.A.; Peh, K.K. dan Ch'ng H.S, 2002, Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence of analytical methods, *J Pharm Pharmaceut Sci*, 5(3):205-212.
- Kim S. F., (2004), *Physicochemical and Functional Properties of Crawfish Chitosan as Affected by Different Processing Protocols*, (tesis) Departement of Food Science Louisiana State University.
- Lim, S., 2002. *Synthesis of a fiber-reactive chitosan derivative and its application to cotton fabric as an antimicrobial finish and a dyeing-improving agent*, (Dissertation) Fiber and polymer science, North Carolina State University.
- Liu N., Xi-Guang, C., Hyun-Jin P., Chen-Guang, L., Cheng-Sheng, L, Xiang-Hong, M. and Le-Jun, Y.,(2006), Effect of MW and Concentration of Chitosan On Antibacterial Activity of Escherichia coli, *Carbohydr. Polym.*, 64, 60-65.
- No, H. K.; Park, N.Y; Lee, S.H. dan Meyers, S. P., 2002, Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights, *Int. J. Food Microbiol.* ,74, 65– 72.
- Rege, P. R. dan Lawrence H. B., 1999, Chitosan processing: influence of process parameters during acidic and alkaline hydrolysis and effect of the processing sequence on the resultant chitosan's properties, *Carbohydr. Res.*, 321, 235–245.
- Tolaimatea, A.; Desbrieresb, J.; Rhazia, M., dan Alaguic, A., 2003, Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties, *Polym. J.* , 44, 7939–7952.
- Shanmugasundaram, O. L., (2006) Chitosan Coated Cotton Yarn and It's effect Antimicrobial Activity, *JTATM*, 5(3), 1-6.
- Yamazaki, M., (2007), *Chemical Modification of Chitosan Films for Improved Hemostatic and Bioadhesive Properties*, (disertasi), Fiber and Polymer Science Program, College of Textiles, North Carolina State University.