

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KITOSAN DARI CANGKANG *BELLAMYA JAVANICA*

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CHITOSAN FROM *BELLAMYA JAVANICA* SHELL

Dewi Perwito Sari^{1*}, Brahmana Rangga Prastyana², Prisma Trida Hardani¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Kesehatan,
Universitas PGRI Adi Buana, Surabaya

²Program Studi Pendidikan Jasmani, Fakultas Pedagogi dan Psikologi,
Universitas PGRI Adi Buana, Surabaya Jl. Dukuh Menanggal XII Surabaya

*Email Corresponding: dewiperwito@unipasby.ac.id

Submitted : 25 May 2022

Revised : 24 June 2022

Accepted: 27 July 2022

ABSTRAK

Kitosan merupakan senyawa alami, non toksik dan sudah banyak digunakan dalam industri makanan maupun farmasi. Kitosan dapat diperoleh dari hasil isolasi cangkang kreca (*Bellamyja javanica*). Kitosan memiliki berbagai aktivitas seperti antitumor, neuroptotektif, antiinflamasi, antijamur dan antibakteri. Aktivitas antibakteri kitosan dari cangkang *Bellamyja javanica* belum diketahui sebelumnya, sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah kitosan hasil isolasi ini memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Kitosan diuji pada konsentrasi 100, 300 dan 500 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kitosan 100, 300 dan 500 ppm memiliki aktivitas antibakteri yang semakin meningkat dengan zona hambat terbesar pada 500 ppm (*E.coli* 10,1±0,5 mm) dan (*S.aureus* 1,8±0,1 mm). Kesimpulan dari penelitian ini adalah kitosan yang diisolasi dari cangkang kreca (*Bellamyja javanica*) memiliki aktivitas sedang terhadap bakteri *Escherichia coli* dan aktivitas lemah terhadap *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi kitosan yang semakin tinggi akan meningkatkan kemampuan daya hambatnya terhadap bakteri.

Kata kunci : Aktivitas antibakteri, Kitosan, *Bellamyja javanica*

ABSTRACT

Chitosan is a natural compound, non-toxic and has been widely used in the food and pharmaceutical industries. Chitosan can be obtained from the isolated shell of kreca (Bellamyja javanica). Chitosan has various activities such as antitumor, neuroprotective, anti-inflammatory, antifungal and antibacterial. The antibacterial activity of chitosan from Bellamyja javanica shell has not been known previously, so this study was conducted to determine whether the isolated chitosan had activity against Escherichia coli and Staphylococcus aureus bacteria. This study showed that 100, 300 and 500 ppm chitosan had increasing antibacterial activity with the largest inhibition zones at 500 ppm (E.coli 10.1±0.5 mm) and (S.aureus 1.8±0.1 mm). The conclusion of this study, there is medium antibacterial activity in chitosan isolated from the shell of kreca (Bellamyja javanica) against Staphylococcus aureus and weak activity against Escherichia coli bacteria. The higher concentration of chitosan will increase the ability of inhibition against bacteria.

Keywords: Antibacterial activity, Chitosan, *Bellamyja javanica*

PENDAHULUAN

Kitin adalah amino polisakarida yang sangat banyak diperoleh dari alam. Kitin dapat diisolasi dari *eksoskeleton krustasea* (kepiting, udang, kerang), spesies *orthoptera*, *gastropoda* dan serangga (Abdel-Rahman *et al.*, 2015; Indriani *et al.*, 2018; Kumari *et al.*, 2015). Struktur kimia kitin $(C_8H_{13}O_5N)_n$ menyerupai selulosa, memiliki satu gugus hidroksil pada setiap monomer yang diganti dengan gugus asetil amina. Kitin terdiri dari (1–4) *linked 2-acetamido-2-deoxy-d-glucosamine*, sedangkan kitosan merupakan turunan utama kitin diperoleh dengan menghilangkan gugus asetil dari kitin (Abdel-Rahman *et al.*, 2015; Hardani *et al.*, 2021)

Kreca atau keong sawah termasuk kelompok *gastropoda* yang saat ini banyak dimanfaatkan sebagai sumber protein oleh masyarakat. Bagian yang dikonsumsi adalah dagingnya, sedangkan cangkangnya menjadi limbah di lingkungan sehingga untuk meningkatkan nilai tambahnya perlu dilakukan penggalan potensi dari cangkang kreca tersebut. Berdasarkan penelitian Hardani *et al.*, (2021) diperoleh hasil bahwa kitin dan Kitosan dapat diperoleh dari hasil isolasi cangkang kreca (*Bellamya javanica*) tersebut.

Kitosan merupakan senyawa alami, non toksik dan sudah banyak digunakan dalam industri makanan maupun farmasi. Manfaat dari kitosan dan oligosakaridanya antara lain sebagai antitumor, neuroprotektif, antiinflamasi, antijamur dan antibakteri (Benhabiles *et al.*, 2012; Pangestuti and Kim, 2010)

Studi aktivitas antibakteri kitosan dari berbagai sumber telah diteliti sebelumnya. Nadia *et al.*, (2022) telah membuktikan bahwa kitosan yang diperoleh dari tulang rawan cumi-cumi (*Loligo sp.*) memberikan aktivitas penghambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, begitu juga Wulandari *et al.*, (2021) membuktikan kitosan dari cangkang kerang hijau mempunyai aktivitas pada bakteri yang sama.

Penelitian terkait aktivitas antibakteri kitosan dari cangkang kreca belum diketahui sebelumnya, sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah kitosan hasil isolasi tersebut memiliki aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri. Bakteri yang akan digunakan sebagai uji adalah *Escherichia coli* mewakili bakteri gram negatif, *Staphylococcus aureus* yang mewakili bakteri gram positif.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain serbuk kitosan yang diperoleh melalui proses isolasi cangkang kreca, bakteri uji *Escherichia coli* (ATCC 25922) dan bakteri *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), media NA (Merck) dan aquadest.

Adapun peralatan yang digunakan antara lain LAF (Biobase), autoclave (GEA), oven (Mettler), cawan petri (Anumbra), tabung reaksi (Pyrex), dan inkubator (Mettler).

Prosedur penelitian

1. Isolasi Kitosan

Kitosan yang akan diujikan pada penelitian ini diperoleh dari serbuk cangkang kreca yang telah dihaluskan kemudian dilakukan tahapan *deproteinasi* dan *demineralisasi*. Serbuk kreca (50g) ditambahkan NaOH 4% 1:20 (b/v) 500 mL dan dipanaskan selama 2 jam (65°C) menggunakan *hotplate stirrer*. Campuran disaring dan residu yang diperoleh di cuci dengan aquadest sampai pH antara 6-7 lalu dikeringkan dalam oven. Selanjutnya serbuk yang didapat ditambahkan HCl 1:15 (b/v) 500 mL dan diaduk selama 30 menit pada suhu ruang. Pada proses ini diperoleh serbuk kitin.

Selanjutnya dilakukan proses deasetilasi dengan cara menghomogenkan serbuk kitin dengan NaOH 60% 1:10 (b/v) pada suhu 120°C selama 60 menit. Campuran disaring dan residunya dicuci dengan aquadest hingga pH 7 kemudian dikeringkan dalam oven suhu 50°C selama 24 jam. Proses ini menghasilkan berat randemen (kitosan) sebesar 5,391g.

2. Preparasi sampel kitosan

Preparasi sampel kitosan dilakukan dengan membuat larutan baku induk kitosan 1000 ppm. Sebanyak 500 mg kitosan dilarutkan dalam asam asetat 1% hingga 500 mL dan dikocok hingga homogen. Konsentrasi larutan baku kerja yang digunakan pada pengujian ini adalah 100 ppm; 300 ppm dan 500 ppm, yang dibuat dengan mengencerkan larutan

baku induk. Untuk membuat larutan baku kerja 100 ppm, di ambil 10 ml larutan baku induk 1000 ppm kemudian diletakkan pada labu ukur 100 ml, tambahkan asam asetat 1% hingga batas tanda dan dihomogenkan. Konsentrasi 300 dan 500 ppm menggunakan langkah yang sama.

3. Pembuatan kultur bakteri

Biakan murni bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diambil dengan ose steril lalu digoreskan pada media NA steril dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam sehingga diperoleh stok kultur bakteri.

4. Penyiapan suspensi bakteri

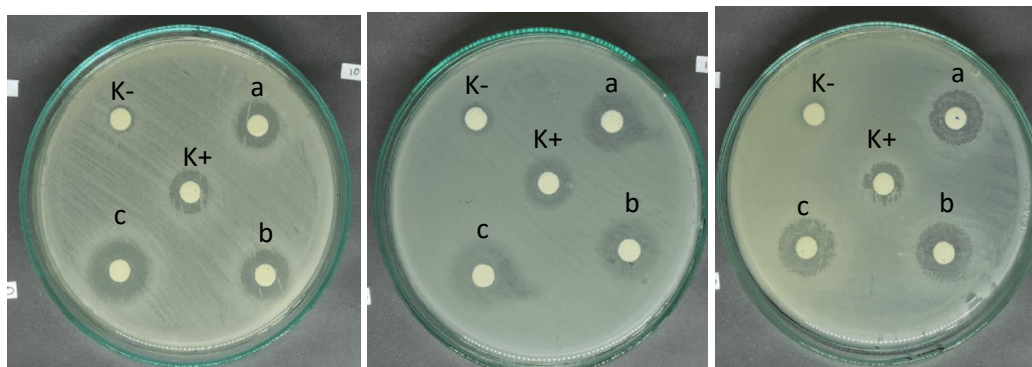
Komposisi larutan standar 0,5 Mc. Farland I adalah : BaCl₂ 1% 0,05 ml dan H₂SO₄ 1% 9,95 ml. Larutan ini merupakan standar McFarland 0,5 ekuivalen dengan suspensi bakteri konsentras 1,5 x 10⁸ CFU/ml dan digunakan sebagai pembanding suspensi bakteri yang dibuat dalam preparasi bakteri. Koloni bakteri dari stok kultur bakteri diambil menggunakan ose dan disuspensikan ke dalam aquadest steril (10 ml) kemudian dihomogenkan. Suspensi bakteri dibandingkan kekeruhannya dengan standard Mc Farland.

5. Uji aktivitas antibakteri kitosan

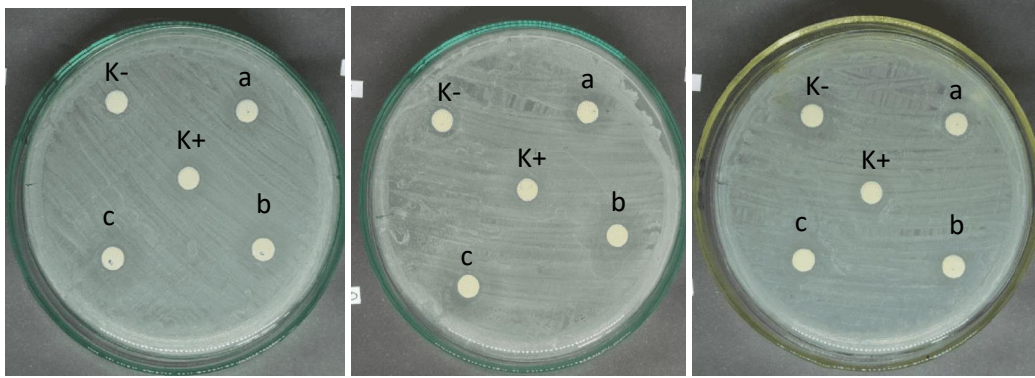
Masing-masing suspensi bakteri digoreskan pada media secara merata. Selanjutnya dimasukkan ke dalam cawan petri kertas cakram yang sebelumnya telah direndam dalam larutan kitosan 100, 300 dan 500 ppm, asam asetat 1% (kontrol negatif) dan metil paraben 0,2% (kontrol positif). Media dibiakkan pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat (daerah yang terlihat lebih bening dari sekitarnya) dan dibandingkan dengan kontrol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji aktivitas antibakteri kitosan dilakukan dengan tiga konsentrasi yaitu 100, 300 dan 500 ppm terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Hasil uji aktivitas antibakteri terlihat dari zona bening yang terbentuk. Zona bening diukur diameternya menggunakan jangka sorong (kertas cakram termasuk dalam pengukuran zona). Hasil pengamatan zona hambat dapat dilihat pada **Gambar 1**, **Gambar 2** dan **Tabel I**. Pada **Gambar 1** dan **Gambar 2** menunjukkan kemampuan penghambatan tumbuhnya bakteri uji oleh isolat kitosan. Semakin luas zona yang terbentuk, menggambarkan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri oleh kitosan lebih tinggi.



Gambar 1. Uji daya hambat kitosan terhadap bakteri *E. coli*



Gambar 2. Uji daya hambat kitosan terhadap bakteri *S.aureus*

Ket:

- (a) Kitosan 100 ppm
- (b) Kitosan 300 ppm
- (c) Kitosan 500 ppm
- (K+) Nipagin 0,2%
- (K-) Asam asetat 1%

Penelitian Benhabiles *et al.*, (2012) dan Kamala *et al.*, (2013) menjelaskan bahwa kitosan hasil isolasi limbah kulit udang *Parapeneopsis stylifera* dan *Parapeneaeus longirostris* memiliki aktivitas pada beberapa mikroorganisme seperti *P.aeruginosa*, *K.pneumonia*, *E.coli*, *K.oxytoca*, *S.aureus*, *S.pneumoniae*, *S. typhi*, *Vibrio cholerae*, *Shigella dysenteriae* dan *Bacteroides fragilis*. Kitosan yang berasal dari hasil isolasi cangkang bekicot juga terbukti memiliki aktivitas menghambat bakteri terhadap bakteri *S.aureus* (Umarudin and Surahmida, 2019).

Tabel I. Uji aktivitas antibakteri kitosan

Bakteri	Replikasi	Zona Hambat (mm)				
		Kitosan dari Cangkang Kreca			Kontrol (+)	Kontrol (-)
		100 ppm	300 ppm	500 ppm		
<i>Escherichia coli</i>	1	5,8	7,2	10	7	0
	2	6	7,5	9,7	8	0
	3	8	9	10,7	6,8	0
	Rata-rata	6,6±1,2	7,9±0,9	10,1±0,5	7,3±0,6	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0,3	0,7	1,9	1,5	0
	2	0,2	0,7	1,7	1,1	0
	3	0,1	0,5	1,9	1,5	0
	Rata-rata	0,2±0,1	0,6±0,1	1,8±0,1	1,4±0,2	0

Berdasarkan Tabel I diketahui peningkatan konsentrasi kitosan menyebabkan peningkatan zona hambat pertumbuhan bakteri yang terbentuk. Hambatan pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.aureus* terbesar terdapat pada konsentrasi 500 ppm (10,1±0,5 mm dan 1,8±0,1 mm) dan terendah pada konsentrasi 100 ppm (6,6±1,2 mm dan 0,2±0,1 mm).

Susanto dan Ruga (2012) dalam Surjowardojo *et al.*, (2015) membagi zona hambat antibakteri dalam empat aktivitas, yaitu kemampuan lemah (<5 mm), kemampuan sedang (6-10 mm), kemampuan kuat (11-20 mm) dan kemampuan sangat kuat (>21 mm). Berdasarkan Tabel I maka dapat terlihat bahwa aktivitas antibakteri kitosan terhadap bakteri *E.coli* pada konsentrasi 100, 300 dan 500 ppm termasuk sedang (6,6±1,2 mm - 10,1±0,5 mm) kemudian pada *S.aureus* memiliki aktivitas lemah (0,2±0,1 mm - 1,8±0,1 mm).

Kitosan diketahui mempunyai aktivitas terhadap banyak jenis mikroorganisme. Kitosan memiliki kemampuan untuk menghambat ataupun membunuh bakteri, ragi maupun jamur. Aktivitasnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri menunjukkan perbedaan efek baik pada gram positif maupun gram negatif. Hal ini disebabkan oleh perbedaan struktur dinding sel dari lapisan peptidoglikan masing-masing bakteri. Lapisan peptidoglikan pada bakteri gram positif lebih tebal apabila terhadap gram negatif. Disamping itu, bakteri gram negatif, terdapat lapisan lipopolisakarida yang tebal, sehingga menyebabkan perbedaan sensitivitas bakteri tersebut terhadap kitosan (Chandrasekaran *et al.*, 2020; Kuhn, 2019)

Aktivitas antibakteri kitosan yang paling umum diusulkan adalah dengan mengikat muatan negatif pada dinding sel bakteri sehingga akan menyebabkan gangguan sel, perubahan permeabilitas membran yang diikuti oleh perlekatan pada DNA. Dampaknya pada penghambatan replikasi DNA serta menyebabkan kematian sel bakteri. Mekanisme lain yang dilaporkan adalah bahwa kitosan bertindak sebagai agen pengkelat yang secara selektif mengikat elemen logam yang menyebabkan produksi toksin dan menghambat pertumbuhan mikroba. Struktur polikationik kitosan memiliki pengaruh utama dalam aktivitas antibakteri, karena pH lingkungan berada di bawah pKa kitosan dan turunannya, interaksi elektrostatis antara struktur polikationik dan komponen anionik yang dominan pada permukaan mikroorganisme (seperti lipopolisakarida Gram-negatif dan protein permukaan sel) memainkan peran utama dalam aktivitas antibakteri. Ketika densitas muatan positif kitosan menguat, sifat antibakterinya akan meningkat. Sebaliknya, jika sifat polikationik kitosan dihilangkan atau dibalik, aktivitas antibakteri akan melemah. Selain protonasi, jumlah gugus amino yang berikatan dengan C-2 pada rantai akhir kitosan penting dalam interaksi elektrostatis. Gugus amino dalam jumlah besar mampu meningkatkan aktivitas antibakteri (Yilmaz Atay, 2019).

Mekanisme utama kitosan sebagai penghambat sel bakteri yang telah diteliti sebelumnya yaitu pada permukaan sel bakteri terdapat interaksi kitosan dengan gugus anionik dan kitosan mempengaruhi permeabilitas dari membran sel bakteri. Sifat polikationik kitosan dapat menyebabkan terbentuknya lapisan kedap air pada sekitar dinding sel bakteri sehingga terjadi hambatan proses pengangkutan zat-zat penting yang dibutuhkan untuk kelangsungan hidup dan metabolisme bakteri. Kitosan juga bekerja pada membran bagian luar bakteri gram negatif bila diamati dengan mikroskop elektron (Kamala *et al.*, 2013).

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa kitosan mempunyai aktivitas antibakteri yang lebih kuat pada bakteri gram negatif, sejalan dengan penelitian Nadia *et al.*, (2022) dan Wulandari *et al.*, (2021) yang juga menunjukkan hasil aktivitas kitosan lebih baik terhadap pada bakteri gram negatif (*E.coli*) apabila dibandingkan bakteri gram positif (*S.aureus*).

Kitosan yang berasal dari hasil isolasi cangkang kreca memiliki aktivitas antibakteri dan dapat dikembangkan penelitian aktivitas lebih lanjut sehingga dapat meningkatkan manfaat dari cangkang kreca (*Bellamyja javanica*).

KESIMPULAN

Berdasarkan uraian diatas dapat disimpulkan bahwa kitosan yang diperoleh dari hasil isolasi cangkang kreca (*Bellamyja javanica*) memberikan aktivitas antibakteri pada tingkat sedang terhadap bakteri *Escherichia coli* dan aktivitas antibakteri tingkat lemah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Kekuatan aktivitasnya ditentukan oleh tinggi rendahnya konsentrasi kitosan yang digunakan. Konsentrasi kitosan yang semakin tinggi memberikan kemampuan daya hambat yang semakin tinggi juga.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan Terimakasih ditujukan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) Universitas PGRI Adi Buana Surabaya yang telah memberikan dana penelitian dosen Tahun 2021.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Rahman, R.M., Hrdina, R., Abdel-Mohsen, A.M., Fouda, M.M.G., Soliman, A.Y., Mohamed, F.K., Mohsin, K., Pinto, T.D., 2015. Chitin and chitosan from Brazilian Atlantic Coast: Isolation, characterization and antibacterial activity. *Int. J. Biol. Macromol.* 80, 107–120. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.06.027>
- Benhabiles, M.S., Salah, R., Lounici, H., Drouiche, N., Goosen, M.F.A., Mameri, N., 2012. Antibacterial activity of chitin, chitosan and its oligomers prepared from shrimp shell waste. *Food Hydrocoll.* 29, 48–56. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.02.013>
- Chandrasekaran, M., Kim, K.D., Chun, S.C., 2020. Antibacterial Activity of Chitosan Nanoparticles: A Review. *Processes* 8, 1173. <https://doi.org/10.3390/pr8091173>
- Hardani, P.T., Perwito, D., Mayzika, N.A., 2021. Review Artikel: Isolasi Kitin Dan Kitosan Dari Berbagai Sumber Bahan Alam. *SNHRP* 469–475.
- Hardani, P.T., Sari, D.P., Rahayu, A., 2021. Isolasi dan Identifikasi Kitosan dari Cangkang Kreca (*Bellamya javanica*) dengan Spektroskopi Inframerah. *Farm. J. Sains Farm.* 2, 36–40. <https://doi.org/10.36456/farmasis.v2i2.5191>
- Indriani, Y., Iswadi, Fuadi, N., 2018. Pemanfaatan Limbah Cangkang Keong Sawah (*Bellamya javanica*) untuk sintesis Hidroksiapatit dengan Modifikasi Pori Menggunakan Pati Ubi Jalar 5, 13.
- Kamala, K., Sivaperumal, P., Rajaram, R., 2013. Extraction and Characterization of Water Soluble Chitosan from *Parapeneopsis Stylifera* Shrimp Shell Waste and Its Antibacterial Activity 3, 1–8.
- Kuhn, A. (Ed.), 2019. *Bacterial Cell Walls and Membranes, Subcellular Biochemistry.* Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-18768-2>
- Kumari, S., Rath, P., Sri Hari Kumar, A., Tiwari, T.N., 2015. Extraction and characterization of chitin and chitosan from fishery waste by chemical method. *Environ. Technol. Innov.* 3, 77–85. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2015.01.002>
- Nadia, L.M.H., Ode Huli, L., Nilda Arifiana Effendy, W., Jonas Rieuwpassa, F., Imra, I., Nurhikma, N., Cahyono, E., 2022. Aktivitas Antibakteri Kitosan dari Tulang Rawan Cumi-Cumi (*Loligo sp.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J. Fishtech* 10, 95–101. <https://doi.org/10.36706/fishtech.v10i2.14386>
- Pangestuti, R., Kim, S.-K., 2010. Neuroprotective Properties of Chitosan and Its Derivatives. *Mar. Drugs* 8, 2117–2128. <https://doi.org/10.3390/md8072117>
- Surjowardojo, P., Susilawati, T., Sirait, G., 2015. Daya Hambat Dekok Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas sp.* Penyebab Mastitis pada Sapi Perah. *TERNAK Trop. J. Trop. Anim. Prod.* 16, 40–48. <https://doi.org/10.21776/ub.jtapro.2015.016.02.6>
- Umarudin, U., Surahmida, S., 2019. Isolasi, Identifikasi, Dan Uji Antibakteri Kitosan Cangkang Bekicot (*Achatina fulica*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dari Penderita Ulkus Diabetikum. *SIMBIOSA* 8, 37. <https://doi.org/10.33373/sim-bio.v8i1.1894>
- Wulandari, W.T., Alam, R.N., Aprillia, A.Y., 2021. Aktivitas Antibakteri Kitosan Hasil Sintesis dari Kitin Cangkang Kerang Hijau (*Perna viridis* L.) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Pharm. J. Indones.* 18, 345–350. <http://dx.doi.org/10.30595/pharmacy.v18i2.7936>
- Yilmaz Atay, H., 2019. Antibacterial Activity of Chitosan-Based Systems, in: Jana, Sougata, Jana, Subrata (Eds.), *Functional Chitosan*. Springer Singapore, Singapore, pp. 457–489. https://doi.org/10.1007/978-981-15-0263-7_15