

**PRODUKSI NANOKITOSAN DARI KITOSAN CANGKANG RAJUNGAN  
(*Portunus pelgicus*) DENGAN METODE GELASI IONIK DAN  
APLIKASINYA SEBAGAI ANTIBAKTERI**

**TRISWONO RAMADHAN ZARKONI**

**H31115016**



**DEPARTEMEN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2019**

**PRODUKSI NANOKITOSAN DARI KITOSAN RAJUNGAN  
(*Portunus pelgicus*) DENGAN METODE GELASI IONIK DAN  
APLIKASINYA SEBAGAI ANTIBAKTERI**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar sarjana sains*

Oleh

**TRISWONO RAMADHAN ZARKONI**

**H31115016**



**MAKASSAR**

**2019**

**PRODUKSI NANOKITOSAN DARI KITOSAN RAJUNGAN  
(*Portunus pelgicus*) DENGAN METODE GELASI IONIK DAN  
APLIKASINYA SEBAGAI ANTIBAKTERI**

**Disusun dan diajukan oleh**  
**TRISWONO RAMADHAN ZARKONI**  
**H31115016**

**Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh:**

**Pembimbing Utama**

  
**Dr. Hasnah Hafsir, M.Si**  
**NIP. 19620320 198711 2 001**



**Pembimbing Pertama**

  
**Dr. Rukaiyah A. Arfah, M.Si**  
**NIP. 19611231 198702 2 002**

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Triswono Ramadhan Zarkoni

NIM : H31115016

Program studi : Kimia

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

**PRODUKSI NANOKITOSAN DARI KITOSAN RAJUNGAN (*Portunus pelgicus*) DENGAN METODE GELASI IONIK DAN APLIKASINYA SEBAGAI ANTIBAKTERI**

Adalah karya tulisan saya sendiri, bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain dan bahwa skripsi/tesis/disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan isi skripsi/tesis/disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 7 Oktober 2021

menyatakan

Triswono Ramadhan Zarkoni

## ABSTRAK

Penelitian produksi nanokitosan dari kitosan rajungan telah dilakukan, tujuan dari penelitian ini untuk memproduksi nanokitosan dari kitosan cangkang rajungan, menentukan persen rendamen nanokitosan yang dihasilkan, menentukan karakteristik nanokitosan yang dihasilkan dan menentukan aktivitas daya hambat nanokitosan yang dihasilkan terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Metode penelitian yang dilakukan untuk pembuatan nanokitosan adalah gelasi ionik, karakterisasi nanokitosan dengan XRD, TEM dan IR, dan uji antibakteri dengan metode difusi agar. Hasil penelitian menunjukkan persen rendamen yang dihasilkan dari produksi nanokitosan yaitu 70,3 %, karakteristik nanokitosan yang dihasilkan berwarna krem, berupa amorf, berbentuk bulat dengan diameter 1 nm hingga 89 nm, nanokitosan yang dihasilkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan diameter hambat 8,3 mm dan 8 mm pada konsentrasi 10 mg/mL.

**Kata kunci:** *Nanokitosan, gelasi ionik, antibakteri.*

## ABSTRACT

Research on the production of nanocitosan from small crab chitosan has been carried out, the purpose of this research is to produce nanocitosan from small crab chitosan, determine the percent of nanocitosan rendement produced, determine the characteristics of the nanocitosan produced and determine the inhibitory activity of nanocitosan produced on the growth of *E. coli* and *S. aureus* bacteria. The research methods conducted for the manufacture of nanocitosan are ionic gelation, nanocitosan characterization with XRD, TEM and IR, and antibacterial test using agar diffusion method. The results showed that percent of rendement produced from the production of nanocitosan is 70.3%, the characteristics of the nanocitosan produced were cream colored, amorphous, round in shape with a diameter of 1 nm to 89 nm, and the nanocitosan had antibacterial activity against *E. coli* and *S. aureus* bacteria with inhibition diameters of 8.3 mm and 8 mm at concentration 10 mg/mL.

**Key-world:** *Nanocitosan, ionic gelation, antibacteriy*

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
PRAKATA .....	iv
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian .....	5
1.3.1 Maksud Penelitian.....	5
1.3.2 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	6
2.1 Nanopartikel Kitosan.....	6
2.2 Metode Pembuatan Nanopartikel Kitosan .....	7
2.2.1 Metode Ikat Silang Emulsi .....	7
2.2.2 Koarsivasi .....	8
2.2.3 Pengeringan Semprot .....	9
2.2.4 Metode Pneggabungan Droplet Emulsi.....	10

2.2.5 Metode Gelasi Ionik .....	10
2.2.6 Reverse Micelles Method .....	11
2.2.7 Kompleks Polielektrolit.....	13
2.3 Karakterisasi Nanopartikel .....	14
2.3.1 <i>Scanning Electron Microscopy</i> dan <i>Transmission Electron Microscopy</i> .....	14
2.3.2 <i>Particle Size Analysis</i> .....	15
2.3.3 <i>Fourier Transform Infra Red</i> .....	16
2.3.4 <i>X-Ray Diffraction</i> .....	16
2.4 Uraian Tentang Kitin .....	16
2.4.1 Sifat Fisika dan Kimia Kitin .....	17
2.4.2 Isolasi Kitin.....	18
2.4.2.1 Tahap Deprotenasi.....	18
2.4.2.2 Tahap Demineralisasi .....	18
2.4.2.3 Tahap Dekolorisasi .....	19
2.5 Uraian Tentang Kitosan.....	19
2.5.1 Aplikasi Kitosan Dalam Bidang Kesehatan .....	22
2.5.1.1 Kitosan Sebagai Antibakteri.....	22
2.6 Uraian Tentang Antibakteri .....	25
2.7 Rajungan ( <i>Portunus pelagicus</i> ).....	28
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b> .....	<b>30</b>
3.1 Bahan Penelitian.....	30
3.2 Alat Penelitian.....	30
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	30
3.4 Prosedur Penelitian.....	31

3.4.1 Karakterisasi Kitosan .....	31
3.4.1.1 Analisis Kadar Air .....	31
3.4.1.2 Analisis Kadar Abu.....	32
3.4.1.3 Analisis N-Total Metode Makro-Kyeldahl .....	32
3.4.2 Produksi Nanopartikel Kitosan dengan Metode Gelasi Ionik	33
3.4.3 Karakterisasi Nanokitosan Tripolifosfat .....	34
3.4.3.1 Penentuan Morfologi dan Ukuran Nanokitosan dengan TEM .....	34
3.4.3.2 Penentuan Gugus Fungsi Nanopartikel dengan FTIR .....	34
3.4.3.3 Penentuan Derajat Kristalinilitas dengan XRD .....	34
3.4.4 Uji Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Kitosan .....	32
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>38</b>
4.1 Karakterisasi Kitosan Cangkang Rajungan .....	38
4.2 Produksi dan Penentuan Rendamen Nanokitosan.....	40
4.3 Karakterisasi Nanokitosan .....	44
4.4 Uji Antibakteri Nanokitosan .....	46
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>50</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>51</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>52</b>

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>halaman</b>
1. Struktur mikrosphere kitosan yang dilihat menggunakan SEM.....	8
2. Struktur selulosa dan kitin .....	17
3. Mekanisme reaksi hidrolisis kitin menjadi kitosan secara kimiawi ....	20
4. Struktur kitosan.....	21
5. Reaksi ikat silang antara kitosan dan tripolifosfat .....	41
6. Penambahan surfaktan tween 80 dalam pembentukan nanokitosan....	42
7. Spektrum FTIR dari Kitosan (a), Na-TPP (b) dan nanokitosan (c). ....	44
8. Pola difraksi sinar-X nanokitosan.....	45
9. Spektrum XRD kitosan .....	46
10. Hasil analisis TEM nanokitosan dengan perbesaran 100 ribu kali .....	47

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>halaman</b>
1. Parameter spesifikasi kitin komersial .....	18
2. Serapan FTIR karakteristik untuk kitin dan kitosan .....	21
3. Penelitian tentang antibakteri kitosan .....	22
4. Komposisi kimia cangkang rajungan .....	29
5. Hasil karakterisasi kitosan rajungan .....	38
6. Diameter zona hambat nanokitosan .....	48

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Produksi nanopartikel kitosan dengan metode gelasi ionik.....	57
2. Pengujian antibakteri nanokitosan .....	58
3. Spektrum FTIR kitosan, Na-TPP, dan nanokitosan .....	59
4. Diameter pada XRD.....	62
5. Data spektrum XRD nanokitosan .....	63
6. Perhitungan pembuatan larutan uji anti bakteri .....	64
7. Dokumentai Penelitian .....	65

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Kepiting, khususnya rajungan (*Portunus pelagicus*), merupakan komoditi ekspor unggulan Indonesia, baik dalam bentuk beku maupun kemasan dalam kalengan. Berdasarkan data pada Badan Pusat Statistik (BPS), bahwa jumlah ekspor rajungan dan kepiting pada 2015 mencapai 29.038 ton dengan nilai US\$ 321.842. Adapun Cangkang yang dihasilkan oleh industri pengolahan kepiting dan rajungan sekitar 40-60% dari total bobot badan. Sehingga dapat diperkirakan jumlah limbah cangkang rajungan di Indonesia dari total produksinya di tahun 2015 mencapai 11.615 – 17.422 ton (Balitbang KP, 2015). Kitosan dapat disintesis dari cangkang kepiting karena cangkang kepiting mengandung senyawa kimia kitin dan kitosan.

Kitin merupakan polimer linier N-asetil-D-glukosamin yang banyak terdapat pada limbah hasil laut seperti cangkang kepiting, kulit udang dan lobster. Kandungan kitin dalam cangkang kepiting sekitar 40–60% yang dapat dikonversi menjadi kitosan (Angka dan Suhartono, 2000). Kitosan memiliki banyak manfaat di berbagai bidang, seperti dalam bidang kesehatan, pertanian, bioteknologi, dan lingkungan.

Beberapa manfaat kitosan dalam bidang kesehatan, antara lain: kitosan memiliki aktivitas antibakteri dan antifungi sehingga dapat menghambat terjadinya infeksi, mempercepat penutupan dan proses penyembuhan pada luka (Ramisz dkk., 2005; dan Sezer dkk., 2007). Kitosan juga dapat menghambat

pertumbuhan ataupun membunuh bakteri, seperti *Escherichia coli*, *Vibrio cholera* dan *Shigella dysenteriae* dengan jalan merusak membran sel (Gumgumjee dkk, 2018). Kitosan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* serta jamur *Candida albicans* (Simpson, 1997)

Kitosan yang diaplikasikan ke daerah luka akan menginduksi analgesia dengan memberikan efek dingin, nyaman, dan sejuk pada kulit. Kitosan mempunyai sifat antikoagulan dalam darah, antitumor, antigastritis, dan juga mempunyai aktivitas hipokolesterolemia sehingga dapat menurunkan kolesterol dalam darah. Kitosan sebagai bahan aditif dalam produk perawatan kulit dan rambut, yaitu digunakan sebagai penutup artifisial untuk kulit yang terbakar (Tokuyasu dkk., 1996 ; Tsigos dkk., 2000).

Senyawa kitosan memiliki berbagai manfaat dalam berbagai bidang, sehingga mendorong para peneliti dan praktisi untuk terus mengembangkannya dalam berbagai penelitian, termasuk melakukan modifikasi kitosan secara kimia atau fisik. Modifikasi fisik pada kitosan mencakup perubahan ukuran partikel menjadi lebih kecil untuk pemanfaatan yang lebih luas. Pengembangan modifikasi fisik mengarah ke bentuk nanopartikel. Menurut Mohanraj dan Chen (2006) nanopartikel kitosan merupakan kitosan yang partikelnya berukuran 1-400 nm.

Hasil penelitian yang terkait dengan produksi dan karakterisasi nanokitosan yang dilaporkan oleh Suptijah dkk. (2011) adalah nanokitosan dari cangkang udang vanname, Rendemen kitosan nanopartikel tertinggi terdapat pada kitosan nanopartikel dengan perlakuan pengecilan ukuran menggunakan alat magnetic stirrer yaitu sebesar 81,30%. Ukuran partikel yang diperoleh dengan menggunakan SEM sebesar 400-450 nm. Magnetic stirrer dapat mendistribusikan

ukuran partikel yang lebih homogen dibandingkan menggunakan homogenizer dan ultrasonikator. Hasil penelitian lainnya telah dilaporkan oleh Patahu (2015) bahwa produksi nanokitosan dari cangkang rajungan menggunakan metode gelasik ionik dan pengecilan ukuran menggunakan magnetic stirrer, ukuran partikel nanokitosan yang diperoleh menggunakan PSA sebesar 206 nm. Demikian pula nanokitosan dari cangkang udang windu, rendemen nano kitosan dengan perlakuan pengecilan ukuran menggunakan magnetic stirrer sebesar 80,67%. Nilai derajat deasetilasi dari kitosan yang digunakan untuk membuat nanokitosan yaitu sebesar 98,65%. Nanokitosan yang terbentuk rata-rata berukuran 228,74 nm, cukup seragam, relatif stabil dan memiliki bentuk partikel yang berupa bulatan menyerupai bola. Pengecilan ukuran partikel dengan magnetic stirrer, dapat mendistribusikan ukuran partikel yang lebih homogen. Penambahan tripoliphospat (TPP) dan surfaktan (Tween 80) dapat menguatkan sifat mekanik kitosan yang mudah rapuh dan dapat membentuk ikatan silang ionik antara molekul kitosan (Nadia dkk.,2014).

Nanokitosan memiliki beberapa kelebihan jika dibandingkan dengan kitosan, antara lain: bersifat stabil dan larut dalam air, dapat meningkatkan bioavaibilitas dan efesiensi dalam penghantaran obat ke sel target. Menurut Suwarda dan Maarif (2012) bahwa nanokitosan mempunyai keunggulan bersifat lebih reaktif, mampu meningkatkan kelarutan senyawa atau zat aktif, mengurangi dosis pengobatan dan meningkatkan absorpsi obat dari kitosan.

Melihat kelebihan yang dimiliki nanokitosan tersebut akan meningkatkan aplikasinya dalam berbagai bidang kehidupan seperti penyembuhan luka bakar (Patahu, 2015), dan antibakteri pembersih tangan (Bahri, 2015).

Kelebihan atau keunggulan nanokitosan tersebut dapat meningkatkan kesehatan masyarakat dalam melawan berbagai penyakit. Saat ini perkembangan penyakit semakin meningkat jumlahnya yang disebabkan oleh bakteri patogen, seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan jenis bakteri patogen utama pada manusia yang menyebabkan pembengkakan bernana pada luka (Pelczar dan Chan, 1988).

Penelitian nanokitosan sampai saat ini terus dikembangkan, baik dalam penentuan komposisi maupun pencarian metode yang sesuai. Pembuatan nanokitosan yang berstabilitas tinggi memerlukan metode yang cukup sulit, maka dilakukan metode yang efektif dan sederhana untuk membuat nanokitosan dengan tingkat keseragaman ukuran dan stabilitas yang cukup tinggi. Dengan demikian telah dilakukan penelitian produksi dan karakterisasi nanokitosan dari kitosan cangkang rajungan dengan metode gelas ionik dan pengecilan ukuran (sizing) dengan magnetic stirrer. Metode gelas ionik merupakan metode yang banyak menarik perhatian peneliti karena prosesnya sederhana, dan dapat dikontrol dengan mudah (Pati dkk., 2010; Patel dkk., 2011).

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. berapa persen rendamen nanokitosan yang dihasilkan dari kitosan cangkang rajungan dengan menggunakan metode gelas ionik?
2. bagaimana karakteristik nanokitosan yang dihasilkan dengan menggunakan metode gelas ionik ?
3. apakah nanokitosan yang dihasilkan dapat menghambat pertumbuhan

bakteri *E. coli* dan *S. aureus* ?

### **1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Maksud Penelitian**

Maksud dari penelitian ini adalah memproduksi nanokitosan menggunakan kitosan cangkang rajungan dan menguji aktivitasnya sebagai antibakteri

#### **1.3.2 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. memproduksi dan menentukan persen rendamen yang dihasilkan dari kitosan cangkang rajungan dengan metode gelasi ionik.
2. menentukan karakteristik nanokitosan meliputi warna, ukuran partikel dan bentuk partikel.
3. menentukan aktivitas daya hambat pada pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* menggunakan nanokitosan yang dihasilkan.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat utama dalam pelaksanaan penelitian ini antara lain:

1. memberikan informasi tentang karakteristik nanokitosan yang dihasilkan dengan metode gelasi ionik.
2. Memberikan informasi mengenai aktivitas antibakteri *E. coli* dan *S. aureus* dari nanokitosan yang dihasilkan.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Nanopartikel Kitosan**

Nanopartikel merupakan partikel koloid padat dengan diameter berkisar antara 1–1000 nm.(Tiyaboonchai, 2003). Dengan nanoteknologi, material dapat didesain sedemikian rupa dalam ukuran nano, sehingga dapat diperoleh sifat dan material yang diinginkan tanpa melakukan pemborosan atom-atom yang tidak diperlukan. Aplikasi nanoteknologi dimaksudkan untuk menghasilkan material berskala nanometer, mengeksplorasi dan merekayasa karakteristik material tersebut, serta mendesain-ulang material tersebut ke dalam bentuk, ukuran, dan fungsi yang diinginkan. Nanopartikel sebagai partikulat material dengan paling sedikit satu dimensi lebih kecil dari 100 nm mempunyai luas permukaan yang besar terhadap perbandingan volume (Siregar, 2009).

Salah satu polimer yang tidak larut dalam air yang dapat digunakan pada pembuatan nanopartikel adalah kitosan. Kitosan memiliki sifat yang ideal, yaitu biocompatible, biodegradable, tidak beracun, dan tidak mahal (Tiyaboonchai, 2003). Disamping itu, kitosan merupakan polisakarida pada urutan kedua dalam hal ketersediaannya di alam dan termasuk sebagai polielektrolit kationik (Wu dkk., 2005).

Nanopartikel kitosan (Nanokitosan) adalah kitosan dengan ukuran 100-400 nm (Mohanraj dan Chen, 2006). Menurut Qi & Xu (2006), nanopartikel kitosan memiliki ukuran 40–100 nm dan muatan permukaan positifnya adalah 50 mV. Kitosan nanopartikel disaring menggunakan membran dengan diameter

0,45 mm dan diotoklaf untuk menghilangkan kontaminan. Nanopartikel stabil pada kondisi proses pemanasan dengan otoklaf.

Menurut Dustgani dkk. (2008) pada penelitiannya memperoleh nanopartikel kitosan dengan ukuran sekitar 256–350 nm yang diukur dengan menggunakan hamburan sinar laser dinamis (*dynamic laser light scattering*). Diameter hidrodinamis dari partikel yang diukur dengan menggunakan hamburan sinar lebih besar dibandingkan dengan ukuran yang diperkirakan dengan menggunakan mikroskop, terutama karena tingginya kapasitas pengembangan dari nanopartikel kitosan.

## **2.2 Metode Pembuatan Nanopartikel Kitosan**

Beberapa metode telah digunakan untuk membuat sistem partikulat kitosan. Penentuan metode yang digunakan bergantung pada faktor-faktor seperti ukuran partikel yang diinginkan, stabilitas fisika dan kimia dari bahan atau material, dan toksisitas residu yang terkait dengan produk akhir (Pati dkk., 2010; Wang dkk., 2011).

Metode yang dapat digunakan untuk memproduksi mikro dan nanopartikel kitosan dari kitosan adalah metode ikatan silang emulsi (*emulsion cross-linking*), presipitasi (*precipitation*), pengeringan semprot (*spray drying*), metode penggabungan droplet emulsi (*emulsion-droplet coalescence method*), gelasi ionik (*ionic gelation*), *reverse micellar method*, dan kompleks polielektrolit (*polyelectrolyte complex*).

### **2.2.1 Metode Ikatan Silang Emulsi (Agnihotri, dkk., 2004; Pati dkk., 2010)**

Metode ini menggunakan grup amina fungsional reaktif dari kitosan

berikatan silang dengan grup aldehid dari agen ikatan silang. Pada metode ini, emulsi air dalam minyak disiapkan dengan mengemulsikan larutan encer kitosan dalam fase minyak. Droplet (tetesan berukuran kecil) encer distabilkan dengan menggunakan surfaktan yang tepat. Emulsi yang stabil direaksikan dengan bahan yang tepat agar terjadi ikatan silang, misalnya glutaraldehid, untuk mengeraskan droplet. Microsphere disaring dan dicuci berulang kali dengan n-heksan dan alkohol kemudian dikeringkan. Dengan metode ini, ukuran partikel dapat dikontrol dengan mengendalikan ukuran droplet encer. Tetapi ukuran partikel produk akhir tergantung pada kemampuan bahan ikatan silang yang digunakan mengeraskan dan kecepatan pengadukan selama pembentukan emulsi (Agnihotri dkk., 2004). Metode ini telah digunakan pada preparasi microsphere kitosan untuk mengenkapsulasi natrium diklofenak dengan menggunakan dua bahan pengikat silang (glutaraldehid dan asam sulfat) dan perlakuan panas. Microsphere adalah bulatan dengan permukaan halus seperti dapat dilihat pada Gambar 1



**Gambar 1.** Struktur mikrosphere kitosan yang dilihat menggunakan SEM (Lv dkk., 2014).

### **2.2.2 Presipitasi (Agnihotri dkk., 2004; Jie dkk., 2011)**

Metode ini memanfaatkan sifat fisikokimia kitosan yang tidak larut pada medium dengan pH alkali sehingga presipitasi atau koarsivasi terjadi pada saat

kontak dengan larutan alkali. Partikel dihasilkan dengan memancarkan larutan kitosan pada larutan alkali seperti natrium hidroksida, NaOH-metanol atau etanadiamin menggunakan nozel udara bertekanan untuk membentuk droplet koaservat. Separasi dan purifikasi dari partikel dilakukan dengan filtrasi/sentrifugasi yang diikuti pencucian dengan air panas dan air dingin secara berurutan. Variasi tekanan udara atau diameter nozel digunakan untuk mengatur ukuran partikel. Pada teknik lain, larutan natrium sulfat ditambahkan tetes demi tetes pada larutan kitosan dalam asam encer yang mengandung surfaktan dengan pengadukan dan ultrasonikasi selama 30 menit. Microsphere dimurnikan dengan sentrifugasi dan disuspensi kembali dalam air yang telah didemineralisasi. Partikel ditambahkan dengan glutaraldehid agar terjadi ikatan silang

### **2.2.3 Pengerinan Semprot (Agnihotri dkk., 2004; Kaur dkk., 2011)**

Pengerinan semprot (spray drying) merupakan teknik yang telah dikenal umum digunakan untuk memproduksi tepung, granula atau aglomerat dari campuran obat dan larutan eksipien serta suspensi. Metode ini didasarkan pada pengerinan droplet atom dalam aliran udara panas. Di dalam metode ini, pertama-tama kitosan dilarutkan atau didispersikan dalam larutan dan kemudian ditambahkan bahan yang tepat untuk pembentukan ikatan silang. Larutan atau dispersi ini diatomisasi dalam aliran udara panas untuk pembentukan droplet kecil. Dari proses ini, pelarut secara instan menguap dan menghasilkan partikel yang bergerak bebas. Ukuran partikel tergantung pada ukuran nozel, kecepatan aliran semprot, tekanan atomisasi, suhu udara inlet, dan tingkat ikatan silang.

#### **2.2.4 Metode Penggabungan Droplet Emulsi (Agnihotri dkk., 2004; Fan dkk., 2012)**

Metode ini memanfaatkan prinsip ikatan silang emulsi (emulsion cross-linking) dan presipitasi. Presipitasi dihasilkan akibat penggabungan droplet kitosan dengan droplet NaOH. Pertama-tama emulsi stabil yang terdiri dari larutan encer kitosan yang mengandung obat dibuat dalam minyak parafin cair dan kemudian emulsi stabil lain yang mengandung larutan NaOH dibuat dengan cara yang sama. Ketika kedua emulsi dicampur dengan pengadukan berkecepatan tinggi, droplet setiap emulsi akan bertumbukan secara acak dan menggabung. Dengan cara demikian presipitasi droplet kitosan akan menghasilkan partikel ukuran kecil. Nanopartikel kitosan yang mengandung asam gadopentetat untuk terapi gadolinium neutron capture disiapkan dengan metode ini. Ukuran partikel yang diperoleh tergantung dari tipe kitosan. Sebagai contoh, penggunaan kitosan dengan derajat deasetilisasi yang lebih kecil menghasilkan ukuran partikel yang lebih besar, tetapi kandungan obatnya lebih kecil. Partikel yang diproduksi dari kitosan dengan derajat deasetilisasi 100% memiliki ukuran rata-rata 452 nm dengan kemampuan mengandung obat 45%.

#### **2.2.5 Metode Gelasi Ionik**

Gelasi atau pembentukan gel merupakan gejala penggabungan atau pengikatan silang rantai-rantai polimer membentuk jaringan tiga dimensi yang dapat menangkap air di dalamnya menjadi suatu struktur yang kompak dan kaku dan tahan terhadap aliran bertekanan (Patel dkk., 2011). Ikatan silang secara fisik melalui interaksi elektrostatis sebagai alternatif dari ikatan silang secara kimia telah diterapkan untuk menghindari kemungkinan toksisitas dari pereaksi dan akibat lain yang tidak dikehendaki. Mekanisme pembentukan nanopartikel kitosan

dengan metode ini didasarkan pada interaksi elektrostatik antara grup amina kitosan dan grup muatan negatif polianion seperti tripolifosfat (TPP). Pembuatan kompleks TPP-kitosan dilakukan dengan meneteskan droplet kitosan ke dalam larutan TPP. Pada metode gelasi ionik, kitosan dilarutkan dalam larutan asam encer untuk memperoleh kation kitosan. Larutan tersebut kemudian ditambahkan dengan meneteskan ke dalam larutan polianionik TPP sambil diaduk. Akibat kompleksasi antara muatan yang berbeda, kitosan mengalami gelasi ionik dan presipitasi membentuk partikel bulat seperti bola. Dengan demikian, nanopartikel dibentuk secara spontan akibat pengadukan mekanis pada suhu kamar. Ukuran dan muatan permukaan partikel dapat dimodifikasi dengan memvariasi rasio kitosan terhadap bahan penstabil (stabilizer) (Agnihotri dkk., 2004; Tiyaboonchai, 2003).

Menurut Millotti dan Bernkop-Schnürch (2009), keuntungan menggunakan metode gelasi ionik yaitu :

- a. Partikel terbentuk dibawah kondisi yang sederhana;
- b. Ukuran dapat disesuaikan;
- c. Memiliki kapasitas baik untuk berasosiasi dengan obat makromolekul pada komposisi partikel.

Salah satu contoh metode gelasi ionik ini adalah mencampurkan polimer kitosan dengan polianion natrium tripolifosfat yang menghasilkan interaksi antara muatan positif pada gugus amina kitosan dengan muatan negatif pada ion tripolifosfat (Pati dkk., 2010).

### **2.2.6 Reverse Micelles Method (Agnihotri dkk., 2004)**

Reverse micelles adalah campuran berupa cairan yang terdiri dari air, minyak, dan surfaktan yang stabil secara termodinamika. Secara makroskopis,

reverse micelles adalah homogen dan isotropik, terstruktur pada skala mikroskopis dalam mikrodoman cairan dan minyak yang dipisahkan oleh lapisan kaya surfaktan. Penyiapan nanopartikel polimerik yang sangat halus dengan distribusi ukuran yang kecil dapat diperoleh dengan menggunakan medium reverse micelles. Inti cairan dari tetesan halus reverse micelles dapat digunakan sebagai nanoreaktor untuk membuat partikel tersebut. Karena ukuran tetesan reverse micelles biasanya terletak antara 1–10 nm, pembuatan nanopartikel yang mengandung obat dalam reverse micelles akan menghasilkan partikel yang amat sangat halus dengan distribusi ukuran yang kecil. Karena tetes halus micelles dalam Gerak Brownian (gerak acak), mereka mengalami penggabungan secara kontinyu yang diikuti oleh pemisahan kembali dalam skala waktu yang bervariasi antara milidetik dan mikrodetik. Ukuran, polidispersitas, dan stabilitas termodinamika dipertahankan dalam sistem oleh kesetimbangan dinamik cepat (rapid dynamic equilibrium).

Surfaktan dilarutkan dalam pelarut organik untuk membuat reverse micelles. Terhadap larutan tersebut, larutan encer dari kitosan dan obat ditambahkan dengan pengadukan secara teratur untuk menghindarkan terjadinya kekeruhan. Fase cair dipertahankan tidak keruh dengan pengadukan untuk menjaga campuran dalam fase mikroemulsi yang transparan. Tambahan air diberikan untuk mendapatkan nanopartikel dengan ukuran yang lebih besar. Guna mendapatkan ikatan silang, terhadap larutan transparan tersebut ditambahkan bahan ikatan silang sambil diaduk selama semalam. Pelarut organik lalu diuapkan untuk mendapatkan massa kering transparan yang kemudian didispersikan dalam air dan ditambah garam yang sesuai untuk mengendapkan surfaktan. Campuran

tersebut selanjutnya disentrifugasi. Larutan supernatan yang merupakan nanopartikel mengandung obat didekantasi. Dispersi cairan yang diperoleh segera didialisis melalui membran dialisis selama 1 jam dan cairan yang didapat, diliofilisasi sehingga dihasilkan serbuk kering.

### **2.2.7 Kompleks Polielektrolit**

Kompleks polielektrolit adalah istilah untuk menjelaskan kompleks yang dibentuk melalui penggabungan diri (self-assembly) polimer kationik dan plasmid DNA. Mekanisme pembentukan kompleks polielektrolit meliputi netralisasi muatan polimer kationik dan DNA yang membentuk hidrofilitas akibat penggabungan diri komponen polielektrolit. Beberapa polimer kationik seperti gelatin dan polietilenimin juga memiliki sifat seperti ini. Nanopartikel terbentuk secara spontan setelah penambahan larutan DNA ke dalam larutan kitosan dalam asam asetat dengan mengaduknya secara mekanis pada suhu kamar. Ukuran kompleks bervariasi antara 50–700 nm (Tiyaboonchai, 2003).

Berbagai perbedaan metode tersebut memberikan hasil yang berbeda pada ukuran partikel maupun struktur molekul kitosan yang terbentuk. Diantara berbagai metode pembuatan nanopartikel kitosan, gelas ionik merupakan metode yang banyak menarik perhatian peneliti karena prosesnya sederhana, dan dapat dikontrol dengan mudah (Pati dkk., 2010; Patel dkk., 2011). Prinsip pembentukan partikel pada metode ini adalah terjadinya interaksi ionik antara gugus amino pada kitosan yang bermuatan positif dengan polianion yang bermuatan negatif membentuk struktur *inter-network* atau intramolekul tiga dimensi (Patel dkk., 2011; Anbarasan dkk., 2013; Saravanabhavan dkk., 2013).

Metode paling umum dalam pembuatan nanopartikel melalui proses

galasik ionik yaitu metode *magnetic stirrer*, metode *homogenizer* ultrasonik dan metode *high speed* (Pati dkk, 2010; Kaur dkk., 2011). Teknik gelasi ionik ini merupakan suatu teknik preparasi yang sederhana. Pertama kitosan dalam pelarut asam asetat ditambahkan dengan agen penstabil seperti alginat yang dapat dilakukan sebelum atau sesudah penambahan polimer anionik. Penambahan polianion secara spontan memicu terbentuknya kompleks nanopartikel dengan pengadukan mekanis pada suhu ruang (Anbarasan dkk., 2013).

### **2.3 Karakterisasi Nanopartikel Kitosan**

Karakterisasi nanopartikel merupakan bagian yang sangat penting untuk mengetahui karakter nanopartikel baik bentuk, ukuran, luas permukaan dan beberapa sifat lainnya. Beberapa metode analisis seperti difraksi, spektroskopi dan mikroskopi dapat memberikan kemudahan dalam menyelidiki nanopartikel.

#### **2.3.1 *Scanning Electron Microscopy* dan *Transmission Electron Microscopy***

Karakterisasi nanopartikel lainnya ialah dengan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* dan *Transmission Electron Microscopy* bertujuan untuk mendapatkan visualisasi morfologi nanopartikel berdasarkan pada mikroskopi elektron. Teknik ini memberikan beberapa keuntungan dibandingkan dalam analisis ukuran dan bentuk nanopartikel dibandingkan teknik lainnya. Teknik ini memberikan informasi mengenai distribusi ukuran beserta populasi ukuran nanopartikel (Jores dkk., 2004).

Analisis SEM, nanopartikel harus dalam bentuk padatan bubuk yang kering yang ditempatkan pada sampel *holder* yang dilapisi oleh logam penghantar seperti logam emas. Sampel di pindai dengan menggunakan sinar elektron dan menggambarkan permukaan sampel pada setiap titik sehingga

memperoleh gambaran nanopartikel. Sinar elektron yang dipancarkan akan menyebabkan emisi elektron sekunder dan sampel yang kemudian dikoleksi dan dideteksi oleh detektor yang selanjutnya memberikan hasil analisis karakter pada permukaan sampel (Molpeceres dkk., 2000; Jores dkk., 2004; Uner, 2015).

TEM bekerja dengan prinsip menembakkan elektron ke lapisan tipis sampel. Dengan analisis TEM dapat diketahui komposisi struktur dalam sampel dengan analisis sifat tumbukan, pantulan maupun fase sinar elektron yang menembus lapisan tipis sampel. Dari sifat pantulan sinar elektron juga bisa diketahui struktur kristal maupun arah dari struktur kristal tersebut (Sonia, 2012).

Analisis dengan menggunakan instrumen TEM, dibutuhkan penipisan sampel hingga memiliki ketebalan  $\leq 100$  nm, larutan nanopartikel ditetaskan ke dalam *grid* karbon yang dilapisi dengan tembaga yang kemudian dikeringkan dengan suhu kamar sebelum dimasukkan ke dalam alat TEM (Vasileva dkk., 2017).

### **2.3.2 Particle Size Analysis**

Analisis nanopartikel lainnya ialah dengan menggunakan instrumen *particle size analysis* (PSA). PSA digunakan untuk mengukur ukuran nanopartikel yang terdistribusi dalam nanopartikel yang terdispersi dalam suatu larutan. PSA mampu mengukur partikel dalam rentang 0,3 nm hingga 8  $\mu$ m (instrumen Nanopartica SZ-100 series) (Horiba, 2012).

Prinsip kerja dari alat PSA adalah *dynamic light scattering* (DLS), yaitu suatu metode pengukuran yang memanfaatkan prinsip penghamburan cahaya. Partikel, emulsi dan molekul dalam suspensi pada dasarnya memiliki gerak Brown, yang diinduksikan oleh energi termal (Horiba, 2016). Ketika partikel atau

molekul disinari cahaya, intensitas dari cahaya yang dihamburkan partikel akan berfluktuasi dengan kecepatan yang bergantung pada ukuran partikel. Semakin kecil partikel tersebut maka semakin cepat berfluktuasi (Skoog dkk., 2007). Hasil utama dari tehnik DLS ialah intensitas distribusi dan indeks polidispersitas yang menjabarkan distribusi partikel (Horiba, 2012).

### **2.3.3 *Fourier Transform Infra Red***

Metode ini didasarkan pada ikatan antar dua atom yang bervibrasi dengan frekuensi yang karakteristik dan mampu menyerap sinar infra merah pada frekuensi tertentu. Sinar inframerah yang diserap akan meningkatkan amplitudo gerakan vibrasi ikatan dalam molekul dan sinar inframerah yang tidak diserap akan diteruskan dan dideteksi menuju detektor yang kemudian direalisasikan dalam bentuk data spektrum. Dari data spektrum dapat diketahui ikatan-ikatan apa saja yang dihasilkan sampel dan yang berubah karena mengalami reaksi redoks dengan logam perak (Sastrohamidjojo, 2013; Uner, 2015).

### **2.3.4 *X-Ray Diffraction (Singh, 2016).***

Fasa identifikasi dan karakterisasi struktur kristal nanopartikel dapat dilakukan dengan menggunakan XRD. Sinar X akan menembus ke dalam serbuk nanopartikel pada kecepatan pengamatan 0,02/menit. Hasil pola difraksi akan dibandingkan dengan standar untuk mendapatkan informasinya.

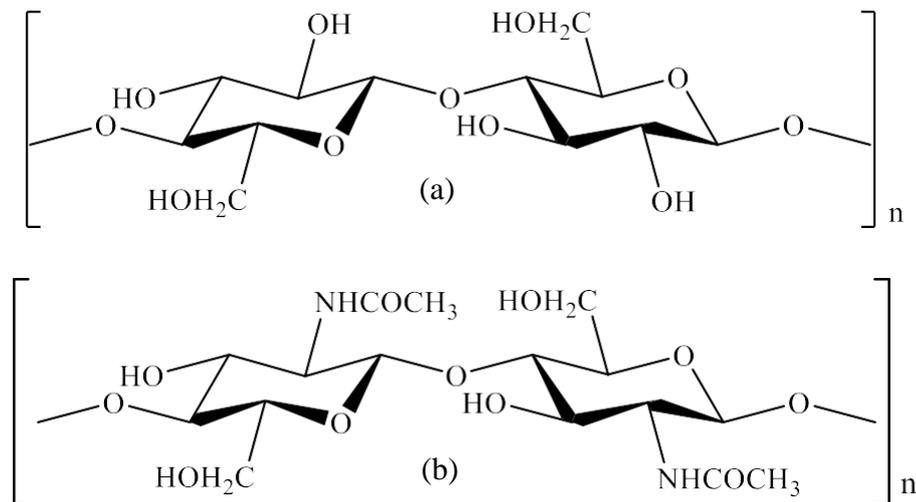
## **2.4 Uraian Tentang Kitin**

Kitin merupakan polimer linear N-asetil D-glukosamin yang jumlahnya melimpah di alam setelah selulosa. Secara hayati, polimer ini disintesis hingga kurang lebih satu miliar ton per tahun di dunia yang diperkirakan 1,5 juta ton

pertahunnya. Kitin dan turunannya adalah senyawa golongan karbohidrat yang banyak dihasilkan dari limbah hasil laut seperti kepiting, kerang, dan udang (Rinaudo, 2014)

#### 2.4.1 Sifat Fisika dan Kimia Kitin

Kitin umumnya tidak berbentuk murni, melainkan suatu kombinasi bersama dengan substansi lain seperti protein, kalsium karbonat, dan pigmen. Kitin termasuk golongan polisakarida yang mempunyai berat molekul besar dan merupakan polimer berantai lurus dengan rumus molekul  $(C_8H_{13}NO_5)_n$ . Nama lainnya adalah  $\beta$ -(1-4)-asetamida-2-deoksi-D-glukosa (N-asetil-D-glukosamin) (Rinaudo, 2014). Struktur kitin mirip dengan selulosa dimana ikatan yang terjadi antara monomernya adalah ikatan glikosida pada posisi  $\beta$ -(1-4) dapat dilihat pada (Gambar 2). Perbedaannya dengan selulosa adalah gugus hidroksil yang terikat pada atom karbon no.2 pada kitin diganti oleh gugus asetamida ( $NHCOCH_3$ ) (Aranaz dkk., 2009).



**Gambar 2.** Struktur (a) selulosa dan (b) kitin (Aranaz dkk., 2009)

Beberapa parameter spesifikasi kitin komersial dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Parameter spesifikasi kitin komersial (Sugita dkk., 2009)

<b>Parameter</b>	<b>Ciri</b>
Ukuran partikel	Serpihan sampai serbuk
Bobot molekul (Dalton)	$3 - 5 \times 10^5$
Kandungan nitrogen	6 - 7%
N-deasetilasi	$\geq 15\%$
Kadar air	$\leq 10\%$
Kadar abu pada 900°C	$\leq 2\%$
Kandungan protein	$\leq 0,5\%$
Kelarutan dalam:	
- Air	Tidak larut
- Asam encer	Tidak larut
- Pelarut organik	Tidak larut
- Enzim pemecah	Lisozim dan Kitinase

#### **2.4.2 Isolasi Kitin**

Sumber utama untuk memproduksi kitin diperoleh dari arthropoda, jamur, dan ragi (Muzzarelli, 2012), tetapi sumber komersial yang penting adalah cangkang kepiting (Park dan Kim, 2010). Secara umum pemurnian kitin secara kimiawi terdiri dari tiga tahapan yaitu deprotenasi, demineralisasi dan dekolorisasi atau depigmentasi.

##### **2.4.2.1 Tahap Deprotenasi**

Tahap pertama dimulai dengan pemisahan protein dengan larutan basa, yang disebut tahap deprotenasi, deprotenasi bertujuan untuk memisahkan protein pada bahan dasar cangkang. Efektifitas prosesnya bergantung pada konsentrasi NaOH yang digunakan (Rochima, 2014).

##### **2.4.2.2 Tahap Demineralisasi**

Tahap kedua yaitu demineralisasi. Tahap demineralisasi bertujuan untuk

memisahkan mineral organik yang terikat pada bahan dasar, yaitu  $\text{CaCO}_3$  sebagai mineral utama dan  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  dalam jumlah sedikit. Proses demineralisasi menggunakan larutan asam klorida encer (Rochima, 2014).

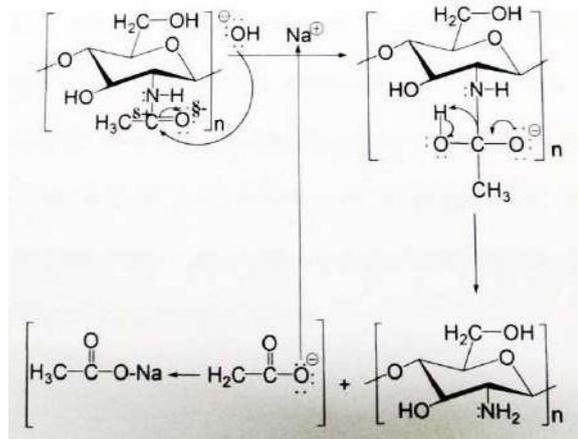
#### **2.4.2.3 Tahap Dekolorisasi**

Penghilangan zat-zat warna dilakukan pada waktu pencucian residu setelah proses deprotenasi dan demineralisasi. Pada proses ini hasil dari proses demineralisasi direaksikan lebih lanjut dengan menggunakan natrium hipoklorit ( $\text{NaOCl}$ ) atau peroksida. Proses dekolorisasi bertujuan untuk menghasilkan warna putih pada kitin (Rochima, 2014).

### **2.5 Uraian Tentang Kitosan**

Kitosan adalah poli (2-amino-2deoksi- $\beta$ -(1-4)-D-glukopiranososa) dengan rumus molekul  $(\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NO}_4)_n$  yang dapat diperoleh dari deasetilasi kitin melalui tahapan proses isolasi deproteinasi, demineralisasi, dekolorisasi dan deasetilasi (Purwatiningsih, 2009).

Proses deasetilasi kitosan dapat dilakukan dengan cara kimiawi maupun enzimatik. Proses kimiawi menggunakan basa, misalnya  $\text{NaOH}$ , dan dapat menghasilkan kitosan dengan derajat asetilasi yang tinggi, yaitu mencapai 85-93% (Tsigos dkk., 2000), sedangkan proses deasetilasi kitin melalui reaksi enzimatik digunakan enzim kitin deasetilase (Natsir dkk., 2007). Mekanisme reaksi hidrolisis kitin secara kimiawi dapat dilihat pada Gambar 3.

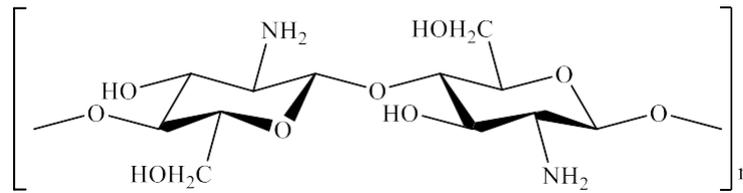


**Gambar 3.** Mekanisme reaksi hidrolisis kitin menjadi kitosan secara kimiawi (Kumiriska dkk., 2011).

Kitosan larut dalam asam mineral pekat seperti HCl dan HNO<sub>3</sub>, tidak toksik dan mempunyai berat molekul 800 kDa. (Tang dkk., 2007). Pelarut yang umum digunakan untuk melarutkan kitosan adalah asam asetat atau asam cuka dengan konsentrasi 1-2%. Kitosan larut dalam asam mempunyai keunikan yaitu membentuk gel yang stabil dan mempunyai dwi kutub, yaitu muatan negatif pada gugus karboksilat dan muatan positif pada gugus NH<sub>2</sub> (Tang dkk., 2007).

Kitosan merupakan polimer poliamin berbentuk linear, mempunyai gugus amina aktif, mempunyai gugus amina yang bermuatan positif, yang dapat mengikat muatan negatif dari senyawa lain, mempunyai kemampuan mengkhelat beberapa logam, serta mudah mengalami degradasi secara biologis dan tidak beracun. Kitosan juga memiliki kemampuan reaksi yang tinggi (alkilasi, asetilasi, karboksilasi) sehingga memberikan kemungkinan membentuk berbagai macam senyawa derivat dengan sifat-sifat baru (Rochima, 2014).

Berdasarkan struktur molekulnya, kitin dan kitosan identik kecuali satu hal yaitu pada setiap cincin molekul kitin terdapat gugus asetamida pada atom karbon nomor 2, sedangkan molekul kitosan pada posisi tersebut ditempati oleh gugus amino (Gambar 4).



**Gambar 4.** Struktur kitosan (Aranaz dkk., 2009).

Derajat deasetilasi (DD) bergantung pada metode pemurnian dan kondisi reaksi. Metode yang dapat dipakai untuk menentukan DD diantaranya tes ninhydrin, titrasi potensiometri linier, spektroskopi NMR, spektroskopi FTIR, dan turunan spektroskopi UV. Pengukuran gugus fungsi pada DD menggunakan spektroskopi FTIR ditentukan dengan metode *base-line*. Metode ini berdasarkan perbandingan nilai absorbansi pita serapan dari spektrum inframerah dengan rentang bilangan gelombang  $4000-400\text{ nm}^{-1}$  (Sugita, 2009).

Gugus fungsi karakteristik dari spektra FTIR kitin dan kitosan dapat dilihat pada Tabel 2

**Tabel 2.** Serapan FTIR Karakteristik untuk Kitin dan Kitosan

jenis Vibrasi	Bilangan Gelombang (cm)	
	Kitin	Kitosan
OH <i>stretching</i>	3500	3450, 3340
NH (-NH <sub>2</sub> ) <i>stretching</i>	-	3400
NH (-NHCOCH <sub>3</sub> ) <i>stretching</i>	3265, 3100	-
CH (CH <sub>3</sub> ) <i>stretching</i>	2965 (lemah)	-
CH (-CH <sub>2</sub> -) <i>stretching asym</i>	2928	2926
CH (-CH <sub>2</sub> -) <i>stretching sym</i>	2871	2864
C=O (-NHCOCH <sub>3</sub> -) <i>stretching</i>	1655	1650 (lemah)
NH (-NHCOCH <sub>3</sub> ) <i>bending</i>	1560	-
CN (-NHCOCH <sub>3</sub> ) <i>stretching</i>	1310	-
NH (R-NH <sub>2</sub> ) <i>bending</i>	-	1596
CN <i>stretching</i>	-	1200-1020
CH (-CH <sub>2</sub> -) <i>bending asym</i>	1426	1418
CH (-CH <sub>2</sub> -) <i>bending sym</i>	1378	1377
C-O (-C-O-C-) <i>stretching asym</i>	1077	1082
C-O (-C-O-C-) <i>stretching sym</i>	1024	1033

## 2.5.1 Aplikasi Kitosan Dalam Bidang Kesehatan

Kitosan telah banyak diteliti sebagai pembawa dalam sistem penghantaran obat dalam berbagai bentuk sediaan seperti gel, film, beads, mikrosfer, tablet dan penyalut untuk liposom (Rowe dkk., 2009). Penelitian kitosan pada berbagai hewan uji menunjukkan kemampuannya untuk meningkatkan hemostasis, menurunkan fibroplasia, memfasilitasi osteogenesis dan meningkatkan regenerasi jaringan. Kitosan juga menunjukkan aktivitas antimikroba dan mempercepat penyembuhan luka (The dkk., 2008).

### 2.5.1.1 Kitosan Sebagai Antibakteri

Berbagai Penelitian mengenai kitosan sebagai sumber antibakteri mengalami perkembangan. Beberapa diantaranya dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Penelitian tentang Antibakteri Kitosan

Peneliti	Hasil Penelitian
Suherman dkk., 2018	Kitosan berfungsi sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan <i>S.epidermidis</i> , <i>P.aeruginosa</i> , <i>Propionibacterium agnes</i> dan <i>E.coli</i> pada konsentrasi kitosan 7% b/v.
Kim, Suyeon, 2018	Kitosan memiliki aktivitas antimikroba, antioksidan, antikanker, dan antiperadangan yang dipengaruhi Derajat deasetilasi (DDA) dan berat molekul (MW)
Melia, 2017	Konsentrasi larutan nanopartikel kitosan 0,6; 5; 50; 250; dan 500 ppm dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji.
Badawy dkk., 2018	Produk kitosan yang dikombinasikan dengan monoterpen dan biofilm memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , <i>Erwinia carotovora</i> , <i>Corynebacterium fascians</i> , dan <i>Pseudomonas solanacearu</i> .
Prabu dan Natarajun, 2012	Kitosan memiliki aktivitas antimikroba pada pengujian antibakteri diperoleh pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% terhadap 10 spesies bakteri dan jamur dan aktivitas antioksidan berskisar antara 18,08% hingga 55,56% pada berbagai konsentrasi (0,1 hingga 10 mg/mL)

Kitosan dapat digunakan sebagai antibakteri dengan mekanisme kitosan dapat berikatan dengan protein membran sel, diantaranya glutamat yang merupakan komponen membran sel. Menurut Simpson (1997), hal ini dapat ditunjukkan pada *Staphylococcus aureus* dan *Enterobacteri aeruginosa*. Selain berikatan dengan protein membran, terutama *phosphatidil colin* (PC) sehingga menyebabkan permeabilitas *inner membrane* (IM) menjadi meningkat dan dengan meningkatnya permeabilitas IM memberi jalan yang mudah untuk keluarnya cairan sel, khususnya pada *Eschericia coli* setelah 60 menit komponen enzim  $\beta$ -galaktosidase dapat terlepas. Hal ini menunjukkan bahwa cairan sel dapat keluar dari sitoplasma dengan membawa komponen metabolit lain dan menyebabkan terjadi lisis. Adanya peningkatan lisis ini menyebabkan terhentinya pembelahan sel (regenerasi) dan menyebabkan bakteri mati. Tsai dan Su (1999) juga melaporkan bahwa kitosan dapat menghambat pertumbuhan *E.coli*. Adanya penghambatan ini disebabkan oleh adanya keelektromagnetifan permukaan sel *E.coli*. Aktivitas antibakteri oligomer kitosan beragam tergantung jenis bakteri uji. Bakteri gram positif yaitu *Lactobacillus monocytogenes*, *Bacillus cereus* dan *S. aureus* lebih dihambat oleh kitosan dibandingkan oligomernya, sedangkan bakteri gram negatif seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* dan *E.coli* lebih dihambat oleh bentuk oligomernya dengan DP 1-8 menggunakan selulase.

Hasil penelitian Tsai dan Su (1999) menunjukkan adanya peningkatan aktivitas antibakteri pada suhu yang tinggi (25°C dan 37°C) dan pH yang lebih asam. Hal ini disebabkan karena pada suhu tinggi terjadi perubahan struktur permukaan sel yaitu penurunan jumlah permukaan sisi yang terikat

(keelektronegatifan) terhadap kitosan. Sementara itu peningkatan aktivitas anti bakteri pada pH asam disebabkan karena grup amin pada posisi C2 (posisi glukosamin) akan diprotonasi, kondisi ini akan menghasilkan interaksi yang disukai dengan residu negatif pada permukaan sel. Adanya ion  $\text{Na}^+$  pada kitosan dapat menurunkan aktivitas antibakteri, hal ini disebabkan karena terjadinya kompleks antara ion dengan kitosan sehingga menurunkan peningkatan kitosan terhadap permukaan sel. Kitosan mengikat secara kuat berbagai logam kation, seperti  $\text{Cu}^{2+}$ , yang mana ini melibatkan kelompok  $-\text{OH}$  dan  $\text{NH}_2$  pada residu glukosamin sebagai ligan. Grup  $-\text{NH}_2$  merupakan sisi yang kritis untuk pengikatan kitosan dengan sel, maka kompleks kitosan dengan  $\text{Na}^+$  menyebabkan kompleks tersebut tidak dapat berikatan dengan permukaan sel. Keberadaan ion divalent seperti  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , dan  $\text{Mg}^{2+}$  juga menurunkan aktivitas antibakteri. Mekanisme yang terjadi hampir sama dengan keberadaan ion  $\text{Na}^+$  (Tsai dan Su 1999).

Kitosan merupakan serat biopolimer yang menarik dan kompatibel sehingga sangat direkomendasikan untuk pengembangan biomatriks untuk aplikasi klinis seperti untuk alat penghantaran obat, pembalut bioaktif dan perancah untuk rekayasa jaringan. Kitosan juga bersifat tidak toksik, nonimunogenik dan biodegradabilitasnya bagus (Pati dkk., 2010).

Sediaan nanopartikel merupakan hasil dari pembaharuan dalam bidang bioteknologi. Sediaan nanopartikel dapat meningkatkan aktivitasnya dan membantu meningkatkan efektivitas kerja obat, terutama yang diberikan secara oral. Pemberian obat secara oral memiliki tingkat bioavailabilitas yang rendah karena stabilitas obat yang mudah sekali terpengaruh oleh keadaan pH, enzim dan

degradasi mikroba. Oleh karena itu, pembentukan polimer nanopartikel dibutuhkan untuk meningkatkan bioavailabilitas obat, sehingga pengaplikasiannya menjadi lebih luas (Pati dkk., 2010).

## **2.6 Uraian Tentang Antibakteri**

Antibakteri adalah senyawa atau kelompok senyawa yang dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan bakteri. Antibakteri bermanfaat untuk mengendalikan pertumbuhan dan kontaminasi oleh bakteri yang dapat menginfeksi manusia, hewan serta tanaman (Pleczar dan Chan, 1988).

Mekanisme penghambatan antibakteri dapat dikelompokkan menjadi lima yaitu, menghambat sintesis dinding sel bakteri, merusak kebutuhan dinding sel, menghambat sintesis protein sel, menghambat sintesis asam nukleat, dan merusak asam nukleat sel bakteri (Pelczar, 2008).

Menurut Madigan (2008), berdasarkan sifat toksisitas selektifnya, senyawa antibakteri mempunyai 3 macam efek terhadap pertumbuhan bakteri yaitu:

- a. Bakteriostatik memberikan efek dengan cara menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh, senyawa bakteriostatik seringkali menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antibakteri pada kultur bakteri yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antibakteri pada fase logaritmik didapatkan jumlah sel total maupun jumlah sel hidup adalah tetap.
- b. Bakteriosidal memberikan efek dengan cara membunuh sel tetapi tidak terjadi lisis sel atau pecah sel. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antibakteri pada kultur bakteri yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antibakteri pada fase logaritmik didapatkan jumlah sel

total tetap sedangkan jumlah sel hidup menurun.

- c. Bakteriolitik menyebabkan sel menjadi lisis atau pecah sel sehingga jumlah sel berkurang atau terjadi kekeruhan setelah penambahan antibakteri. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antibakteri pada kultur bakteri pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antibakteri pada fase logaritmik, jumlah sel total dan sel hidup menurun.

Daya antibakteri dapat diukur secara *in vitro* dengan metode pengenceran dan metode difusi. Metode difusi dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak (Jawetz, 2001).

Bakteri dapat dibedakan berdasarkan morfologi dan pemanfaatan kemoterapi menjadi dua, yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif.

Kedua bakteri dapat dibedakan berdasarkan pewarnaan Gram. Warna ungu menandakan bakteri Gram positif dan warna merah menandakan Gram negatif (Pleczar, 2008). Bakteri yang sering menyebabkan penyakit yang menginfeksi manusia diantaranya *Staphylococcus aureus* yang tergolong bakteri Gram positif dan *Eschericia coli* tergolong bakteri Gram negatif (Pleczar dan Chan, 1988). Menurut Mittal (2011), bakteri Gram negatif memiliki lipopolisakarida, lapisan membran luar dan lapisan peptidoglikan tipis (2-3 nm) yang berada diantara periplasma (diantara lapisan luar dan membran sitoplasmik). Sedangkan bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang terdiri atas lapisan peptidoglikan yang tebal (20-80 nm) dan asam teichoic.

#### **a. Bakteri *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* merupakan golongan bakteri Gram positif, famili

Miroccoceae, berbentuk bulat dengan diameter 0,5-1,5  $\mu\text{m}$ . *S.aureus* dapat hidup aerobik amupun anaerobik fakultatif, bersifat non motil dan tidak membentuk spora, umumnya tumbuh berpasangan maupun berkelompok (Pleczar dan Chan, 1988).

Klasifikasi bakteri *S.aureus* menurut Rosenbach dalam pelczar (2008), adalah sebagai berikut:

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

Bakteri ini dapat ditemukan pada luka bernanah terutama dalam selaput hidung, gusi, folikel rambut dan kulit, serta menyebabkan intoksikasi dan infeksi bisul pneumonia (Jawetz dkk., 1996). Hampir semua *S.aureus* bersifat patogen dan dapat memproduksi enam jenis enterotoksin (A, B, C1, C2, D, dan E) dengan tingkat toksisitas yang berbeda. Bakteri ini juga dapat menyebabkan pembengkakan bernanah pada luka (Pelczar dan Chan, 1988).

#### **b. Bakteri *Escherichia coli***

*Escherichia coli* pertama kali diidentifikasi oleh dokter hewan Jerman, Theodor Escherich dalam studinya mengenai sistem pencernaan pada bayi hewan. *E.coli* merupakan mikroba dari famili Enterobacteriaceae yang normal

terdapat di saluran pencernaan hewan dan manusia (Todar, 1997).

Menurut Todar (1997), kalsifikasi dari bakteri *E.coli* adalah sebagai berikut:

Superdomain : Phylogenetica  
Filum : Proterobacteria  
Kelas : Gamma Proteobacteria  
Ordo : Enterobacteriales  
Family : Enterobacteriaceae  
Genus : *Escherichia*  
Species : *Escherichia coli*

*E.coli* berbentuk batang dengan panjang 2,0-6,0  $\mu\text{m}$ , bersifat anaerobik fakultatif serta tergolong bakteri gram negatif. *E.coli* tumbuh optimum pada suhu 37°C, pH optimum pertumbuhan 7,0-7,5, dan tidak sensitif terhadap panas. Secara umum bakteri *E.coli* dianggap sebagai bakteri yang tidak patogen di dalam saluran pencernaan, namun patogen apabila berada di luar saluran pencernaan (Jawetz dkk., 2001).

## 2.7 Rajungan (*Portunus pelagicus*)

Rajungan (*Portunus pelagicus*) adalah hasil laut yang penting dalam sektor perikanan di negara tetangga. Rajungan merupakan salah satu komoditas perikanan yang mempunyai nilai ekonomis tinggi. Menurut Afiati dkk. (2007), nomenklatur rajungan sebagai berikut:

Kingdom : Animalia  
Sub Kingdom : Eumetazoa  
Divisi : Eucoelomata  
Filum : Arthropoda

Kelas	: Crustasea
Sub Kelas	: Malacostraca
Ordo	: Decapoda
Famili	: Portunidae
Sub Famili	: Portunninae
Genus	: Portunus
Spesies	: <i>Portunus pelagicus</i>

Limbah rajungan cukup tinggi, yang berupa 57% cangkang dan 3% sisa-sisa daging yang menempel pada cangkang atau rata-rata 27.360 kg cangkang kering per bulan (Sari, 2014). Cangkang merupakan bagian terkeras dari semua komponen rajungan dan selama ini baru dimanfaatkan sebagai pakan ternak atau pupuk organik mengingat kandungan mineral terutama kandungan kalsiumnya yang cukup tinggi. Cangkang rajungan mengandung kitin, protein,  $\text{CaCO}_3$  serta sedikit  $\text{MgCO}_3$  dan pigmen astaxanthin (Rochima, 2014).

Khasanah dan Indah (2014) menyatakan bahwa satu ekor rajungan dengan bobot tubuh antara 100-350 g menghasilkan cangkang sekitar 51% dari bobot tubuhnya. Limbah rajungan mengandung 25% bahan padat dan 25% dari padatan tersebut adalah kitin (Rochima, 2014). Menurut Khasanah dan Indah (2014) komposisi kimia dari cangkang rajungan dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Komposisi kimia cangkang rajungan.

Parameter	Jumlah (%)
Air	4,32
Protein	18,18
Lemak	2,27
Serat kasar	16,67
Abu	44,28
Karbohidrat	14,28
Mineral	
- Fosfor	1,81
- Kalsium	19,97
- Magnesium	1,29