

**ISOLASI, KARAKTERISASI KITIN DAN KITOSAN DARI CANGKANG
KERANG BULU (*Anadara antiquata*) SERTA UJI AKTIVITAS KITOSAN
SEBAGAI ANTIBAKTERI**

VINY ERY WIDYASTUTI

H031 18 502



**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**ISOLASI, KARAKTERISASI KITIN DAN KITOSAN DARI CANGKANG
KERANG BULU (*Anadara antiquata*) SERTA UJI AKTIVITAS KITOSAN
SEBAGAI ANTIBAKTERI**

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

Oleh :

Viny Ery Widyastuti

H031 18 502



**MAKASSAR
2023**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**ISOLASI, KARAKTERISASI KITIN DAN KITOSAN DARI CANGKANG
KERANG BULU (*Anadara antiquata*) SERTA UJI AKTIVITAS KITOSAN
SEBAGAI ANTIBAKTERI**

Disusun dan diajukan oleh

VINY ERY WIDYASTUTI

H1031 18 1502

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Sidang Sarjana Program Studi
Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Hasanuddin

Pada 5 September 2023


dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Pertama


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


Prof. Dr. Hasnah Natsir, M.Si
NIP. 19620320 198711 2 001


Ketua Program Studi

Dr. St Fauziah, M.Si
NIP.19720202 199903 2 00202

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Viny Ery Widyasuti
NIM : H031181502
Program Studi : Kimia
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul “Isolasi, Karakterisasi Kitin dan Kitosan Dari Cangkang Kerang Bulu (*Anadara antiquata*) Serta Uji Aktivitas Kitosan Sebagai Antibakteri” adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 5 September 2023

Yang Menyatakan,

Viny Ery Widyasuti



PRAKATA

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillah rabbi ‘alamin, segala puji dan syukur atas kehadiran Allah Subhanahu wa ta’ala, yang telah melimpahkan hidayah dan taufik-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat serta salam senantiasa penulis curahkan kepada junjungan kita, Nabi Muhammad Shallallahu alaihi wa sallam.

Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada ibu **Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si** dan ibu **Prof. Dr. Hasnah, Natsir, M.Si** sebagai pembimbing yang telah berkenan meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing dan memotivasi penulis dalam melaksanakan penelitian maupun proses penyelesaian skripsi ini. Bapak **Dr. Yusafir Hala, M.Si** dan Bapak **A. Muhammad Ansar, S.Si, M.Si** selaku penguji yang telah meluangkan waktunya untuk memberi saran dan masukan yang berharga kepada penulis agar lebih baik lagi.

Segala Perjuangan Saya hingga titik ini, saya persembahkan teruntuk orang – orang hebat yang selalu menjadi penyemangat sehingga penulis dapat kuat dan bertahan sampai dengan titik ini.

1. Seluruh dosen dan staff Departemen Kimia yang telah memberikan banyak ilmu, pelayanan serta bantuan yang telah diberikan kepada penulis.
2. Seluruh analis laboratorium yang senantiasa membantu penulis selama proses penelitian mulai dari awal hingga selesai.
3. Kedua orang tua penulis Bapak Amiruddin dan Ibu Hasmina, orang yang hebat yang selalu menjadi penyemangat penulis sebagai sandaran terkuat. Tidak henti – hentinya memberikan kasih sayang dengan penuh cinta dan

selalu memberikan motivasi, terimakasih selalu berjuang untuk semuanya berkat do'a dan dukungan Mama & Bapak saya bisa berada di titik ini. Semoga sehat selalu dan tetap menyaksikan segala hal yang insyaAllah akan saya perjuangkan hingga saya capai nantinya.

4. Keluarga penulis, Kakek Alm. Rampo Musa, Nenek Jumalia, Adik Naurah Ruqayah, Putri Salsa bila, serta seluruh keluarga yang senantiasa memberikan do'a, dukungan, motivasi, serta limpahan cinta dan kasih sayang.
5. Sahabat tersayang Putri Amalia, Erika, Sabrina, Risma, Febrianty, Chindy, Heryanti, Risna, Marhamah, Dito, yang senantiasa menghibur dan memberikan semangat kepada penulis.
6. Teman-teman **Kimia 2018** yang telah banyak memberikan kesan dan kisah yang menarik selama perkuliahan baik. Semoga segala perjuangan selama perkuliahan bisa menjadi saksi kesuksesan kita.
7. Afrialdy, yang senantiasa mendengarkan keluh kesah penulis, memberi dukungan, motivasi, pengingat, terimakasih telah menemani penulis hingga skripsi ini dapat terselesaikan.
8. Terakhir, untuk diri sendiri, karena telah mampu berusaha keras dan berjuang sejauh ini. Tidak pernah memutuskan menyerah sesulit apapun proses penyusunan skripsi ini dengan menyelesaikan sebaik dan semaksimal mungkin, ini merupakan pencapaian yang patut dibanggakan untuk diri sendiri.

Makassar, 04 Agustus 2023

Viny Ery Widyastuti

ABSTRAK

Penelitian Isolasi, Karakterisasi Kitin dan Kitosan dari Cangkang Kerang Bulu (*Anadara antiquata*) serta Uji Aktivitas Kitosan sebagai Antibakteri telah dilakukan dengan tujuan optimasi proses isolasi kitin, produksi kitin dan kitosan pada kondisi optimum menggunakan metode optimasi *Response Surface Methodology (RSM)*, mengkarakterisasi dan menentukan efektivitas kitosan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Optimasi proses isolasi kitin secara kimia dengan 3 tahap yaitu, proses deproteinasi menggunakan pelarut NaOH 1-5%, proses demineralisasi menggunakan HCl 0,5-1,5 M, proses depigmentasi menggunakan NaOCl 0.5%, proses penghilangan gugus asetil pada kitin menggunakan NaOH 60%. Karakterisasi kitin dan kitosan dilakukan dengan menghitung kadar air, kadar abu, kadar protein dan derajat deasetilasi. Kadar air pada kitin sebesar 3.89% dan kitosan 2.96%. Kadar abu pada kitin sebesar 1.82% dan kitosan sebesar 1.24%. Kadar N-Total pada kitin sebesar 0.53% dan kitosan sebesar 0.29%. Derajat deasetilasi yang diperoleh pada kitin yaitu 17.2% dan pada kitosan sebesar 86%. Hasil uji konsentrasi kitosan terhadap aktivitas antibakteri *E. coli* dan *S. aureus* didapatkan zona hambat terbesar yaitu pada konsentrasi kitosan 1.5% selama 72 jam terhadap bakteri *E.coli* sebesar 13.1 mm dan *S. aureus* sebesar 14.3 mm.

Kata kunci: cangkang kerang bulu, *E.coli*, kitin, kitosan, RSM, *S. aureus*

ABSTRACT

Research on isolation, characterization of chitin and chitosan from feather shells (*Anadara antiquata*) and chitosan their application as an antibacterial has been carried out with the aim of optimizing the process of chitin isolation, producing chitin and chitosan at optimum conditions using the Response Surface Methodology (RSM) optimization method, characterizing and determining the effectiveness of chitosan in inhibiting the growth of *E. coli* bacteria. and *S. aureus*. Optimization of the chemical isolation of chitin in 3 stages, namely, the deproteination process using 1-5% NaOH solvent, the demineralization process using 0.5-1.5 M HCl, the depigmentation process using 0.5% NaOCl, the process of removing the acetyl group in chitin using NaOH 60%. The characterization of chitin and chitosan was carried out by calculating the moisture content, ash content, protein content and degree of deacetylation. The water content in chitin is 3.89% and chitosan is 2.96%. Ash content in chitin is 1.82% and chitosan is 1.24%. Total N levels in chitin is 0.53% and chitosan is 0.29%. The degree of deacetylation obtained in chitin is 17.2% and chitosan is 86%. The results of the test of chitosan concentration on the antibacterial activity of *E. coli* and *S. aureus* obtained the largest inhibition zone at 1.5% chitosan concentration for 72 hours against *E. coli* bacteria of 13.1 mm and *S. aureus* of 14.3 mm.

Keywords: chitin, chitosan, *E.coli*, feather shells, RSM, *S. aureus*

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA.....	iv
ABSTRAK.....	
vii	
ABSTRACT.....	
viii	
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	
xii	
DAFTAR GAMBAR.....	
xiii	
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SIMBOL DAN ISTILAH.....	xv
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 Kerang Bulu (<i>Anadara antiquata</i>).....	6
2.2 Kitin.....	7
2.3 Kitosan.....	9
2.4 Kitosan Sebagai Antibakteri.....	12
2.5 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	13
2.6 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.7 <i>Response Surface Methodology</i> (RSM).....	16
BAB III METODE PENELITIAN.....	18
3.1 Bahan Penelitian.....	18
3.2 Alat Penelitian.....	18
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	18
3.4 Prosedur Penelitian.....	19
3.4.1 Preparasi cangkang kerang bulu.....	19
3.4.2 Isolasi Kitin dari Serbuk Cangkang Kerang Bulu (CKB).....	19
3.4.3 Produksi Kitin pada Kondisi Optimum.....	21
3.4.4 Deasitilasi kitin Menjadi Kitosan.....	22
3.4.5 Karakterisasi kitin dan kitosan.....	23
3.4.6 Uji Antibakteri.....	26
3.4.6.1 Pembuatan Media <i>Mueller-Hinton Agar</i> (MHA).....	26
3.4.6.2 Peremajaan Bakteri Uji.....	26
3.4.6.3 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji.....	26

3.4.6.4 Pembuatan Larutan Kitosan.....	26
3.4.6.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	27
3.4.7 Analisis Statistik.....	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
4.1 Optimasi Deproteinasi.....	28
4.2 Produksi Kitosan.....	36
4.3 Karakterisasi Kitin dan Kitosan.....	38
4.3.1 Kadar Air Kitin dan Kitosan.....	39
4.3.2 Kadar abu.....	40
4.3.3 Kadar N-Total.....	40
4.3.4 Analisis Gugus Fungsi dan Derajat Deasitilasi Kitin.....	41
4.3.5 Analisis Gugus Fungsi dan Derajat Deasitilasi Kitosan.....	42
4.4 Uji Aktivitas Antibakteri Kitosan.....	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	48
5.1 Kesimpulan.....	48
5.2 Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA.....	49

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Sumber Kitin.....	8
2. Sumber Kitosan	11
3. Karakteristik Kitin dan Kitosan.....	11
4. Design Eksperimen Deproteinasi.....	20
5. Design Eksprimen Demineralisasi	21
6. Hasil Optimasi Deproteinasi Kitin	30
7. <i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) deproteinasi kitin	31
8. Hasil Optimasi Demineralisasi Kitin.....	35
9. <i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Demineralisasi Kitin	36
10. Hasil uji kadar air, kadar abu, kadar protein dan derajat deasetilasi...	40
11. Perbandingan Uji Kadar Air, Kadar Abu, Kadar protein dan derajat deasetilasi kitosan	41
12. Karakteristik Gugus Fungsi Kitin	44
13. Karakteristik Gugus Fungsi Kitosan	46
14. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Kitosan	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerang Bulu (<i>Anadara antiquata</i>)	6
2. Struktur kitin	8
3. Struktur kitosan	10
4. Bakteri <i>E. coli</i>	13
5. Bakteri <i>S. aureus</i>	15
6. Reaksi Deproteinasi	29
7. Penentuan Titik Optimum Deproteinasi.....	32
8. Variasi Optimasi Deproteinasi.....	33
9. Penentuan Titik Optimum Deproteinasi	37
10. Variasi Optimasi Tahap Demineralisasi.....	38
11. Kitosan Hasil Isolasi dari Cangkang Kerang Bulu	39
12. Reaksi Kitin Menjadi Kitosan.....	40
13. Spektrum FTIR Kitin Cangkang Kerang Bulu.....	44
14. Spektrum FTIR Kitin Standar.....	44
15. Spektrum FTIR Kitosan Cangkang Kerang Bulu.....	46
16. Spektrum FTIR Kitosan Standar.....	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Diagram Alir Penelitian.....	59
2. Bagan Kerja Preparasi Sampel dan Prosedur Penelitian	60
3. Hasil Optimasi Deproteinasi.....	65
4. Hasil Uji Analisa Bahan Kadar Protein	66
5. Plot Kontour Optimasi Deproteinasi.....	67
6. Hasil Uji Validasi Optimasi Deproteinasi	68
7. Hasil Optimasi Demineralisasi	69
8. Hasil Uji Analisa Bahan Kadar Abu	70
9. Plot Kontur Optimasi Demineralisasi	71
10. Hasil Uji Validasi Optimasi Demineralisasi	72
11. Hasil Uji Kadar Air, Kadar Abu dan Kadar N-Total Kitin	73
12. Hasil Uji Kadar Air, Kadar Abu dan Kadar N-Total Kitosan	74
13. Hasil Uji Antibakteri Kitosan	75
14. Hasil Data Spektrum FTIR Kitin.....	76
15. Hasil Data Spektrum FTIR Kitosan.....	77
16. Perhitungan Rendamen.....	78
17. Perhitungan Derajat Deasitilasi Kitin.....	79
18. Perhitungan Derajat Deasitilasi Kitosan.....	80

DAFTAR SIMBOL DAN ISTILAH

Simbol	Arti
FTIR	<i>Fourier Transform Infra Red</i>
CKB	Cangkang Kerang Bulu
RSM	<i>Response Surface Methodology</i>
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
MHA	<i>Meuller Hilton Agar</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escheria coli</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
MPASI	Makanan Pendamping ASI

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kerang bulu (*Anadara antiquata*) termasuk kedalam kelas *Bivalvia* yang dapat dimakan dan bernilai ekonomis, sehingga dimanfaatkan sebagai sumber pangan dalam pemenuhan gizi masyarakat Indonesia. Ciri khas kerang bulu ini adalah pada bagian sisi cangkangnya terdapat bulu-bulu halus, kerang ini juga dapat dimanfaatkan dalam bidang perikanan. Pemanfaatan sumber daya laut untuk kerang bulu merupakan hal yang penting sebagai sumber pangan dan komoditi perdagangan (Nail, 2017).

Kerang bulu sangat potensial untuk dikembangkan, karena memiliki kandungan gizi tinggi seperti protein, asam lemak, mineral dan vitamin (Arwin dkk., 2016). Berdasarkan data kementerian kelautan dan perikanan, produksi kerang bulu mencapai 678,3 ton pertahun (Yuliana dkk., 2013). Potensi hasil kerang bulu yang besar akan berdampak pada peningkatan limbah cangkang yang dihasilkan. Limbah yang dibiarkan menumpuk tanpa adanya penanganan akan menimbulkan pencemaran dan dapat menyebabkan estetika lingkungan disuatu wilayah dapat terganggu (Mulyaningsih dkk., 2015).

Cangkang kerang mempunyai beberapa kandungan senyawa kimia diantaranya yaitu kitin, kalsium karbonat, kalsium hidrosiapatit dan kalsium posfat (Kyoon dkk., 2003). Sebagian besar cangkang mengandung kitin, yang merupakan polisakarida alami yang mempunyai banyak manfaat, dan juga telah dilakukan berbagai upaya modifikasi kitin dengan tujuan mengoptimalkan dan

memperluas penggunaan kitin di berbagai bidang. Selain itu cangkang kerang juga dapat dimanfaatkan menjadi kitosan yang merupakan bentuk turunan dari kitin (Baharuddin dan Isnaeni, 2020). Isolasi kitin menjadi kitosan dapat diperoleh dengan menggunakan metode penghilangan protein (deproteinasi) menggunakan larutan alkali, dilanjutkan dengan penghilangan mineral (demineralisasi) menggunakan larutan asam. Kemudian dilakukan proses dekolorisasi untuk menghilangkan warna menggunakan aseton atau natrium hipoklorit. Selanjutnya kitosan dihasilkan dari kitin melalui proses deasetilasi atau reduksi gugus asetil menggunakan larutan alkali dengan pemanasan pada suhu yang tinggi (Hargono, 2008).

Tingkat kemurnian kitin yang dihasilkan dapat dilihat dari derajat deasetilasi. Derajat deasetilasi kitin ditentukan oleh beberapa faktor yaitu konsentrasi NaOH, suhu dan lama proses deasetilasinya (Bahri dkk., 2015). Proses optimasi isolasi kitin dilakukan sebagai riset prapenelitian yang dapat dilakukan untuk memperoleh kondisi optimum isolasi kitin. Salah satu metode optimasi yang dapat digunakan yaitu *Response Surface Methodology* (RSM) atau metode respons permukaan yang merupakan metode statistik dan matematika teknik yang berguna untuk mengembangkan, meningkatkan dan mengoptimalkan proses. Gagasan utama dari metode ini yaitu mengetahui pengaruh variabel bebas terhadap respon. Keunggulan metode RSM yaitu tidak memerlukan data-data percobaan dalam jumlah besar dan tidak membutuhkan waktu yang lama. Penggunaan metode RSM pada proses deproteinasi dan demineralisasi diharapkan dapat menghasilkan kondisi kitin yang optimum (Nurmiah dkk., 2013).

Kitin yang dihasilkan dari proses isolasi memiliki banyak potensi, salah satu potensi kitin yaitu dapat digunakan untuk pembuatan kitosan melalui proses deasetilasi menggunakan larutan alkali dengan konsentrasi dan suhu yang tinggi. Saat ini kitosan telah diplikasikan dalam berbagai produk seperti, kesehatan, makanan, fungisida, biomedis, kosmetik, dan sebagai keunggulan dalam pengolahan limbah (Synowiecki dan Al-Khateeb, 2003).

Kitosan tidak beracun dapat terdegradasi secara alami dan biokompatibel, sehingga berpotensi digunakan sebagai bahan baku jahitan pasca operasi, implant gigi, sistem penghantaran obat, dan sebagai bahan pelapis kapsul. Kitosan juga dapat digunakan sebagai bahan antibakteri alternatif karena kitosan dapat berinteraksi secara aktif dengan sel, enzim atau matrik polimer yang bermuatan negatif dan sebagai agen antibakteri karena kitosan dapat menghambat pertumbuhan berbagai mikroba patogen penyebab penyakit (Lim, 2022).

Beberapa bakteri umumnya dapat berdampak pada kesehatan manusia seperti jenis bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Hal ini dikarenakan *E. coli* bersifat patogen jika berada di luar usus manusia, sehingga bakteri ini sering digunakan sebagai indeks pencemaran air (Sumarsih, 2003). Bakteri *S. aureus* menghasilkan toksin yang tidak dapat dibunuh hanya dengan pemanasan, sehingga keracunan makanan sering disebabkan oleh enterotoksin yang dihasilkan oleh bakteri ini. Masing-masing bakteri tersebut adalah bakteri Gram positif (*S. aureus*) dan bakteri Gram (*E. coli*) (Febriyanti, 2015).

Penelitian yang dilakukan oleh Kordi, (2021), dihasilkan karakteristik kitosan dari cangkang kerang hijau yaitu kadar air sebesar 0,30%, kadar abu 0,45%, Kadar N-Total 4,52%, dan derajat deasetilasi sebesar 84,80%. Penelitian

lainnya dilakukan oleh Nurainy, dkk. (2008) melaporkan bahwa kitosan memiliki aktivitas penghambatan terhadap *E. coli* (bakteri Gram negatif) pada penambahan kitosan dengan konsentrasi 0,2%, dan aktivitas hambat kitosan sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* dengan diameter hambat tertinggi adalah penambahan kitosan dengan konsentrasi 0,2%.

Berdasarkan uraian sebelumnya, telah dilakukan proses isolasi yang optimal untuk menghasilkan kitin dan kitosan dengan mempertimbangkan efek deproteinasi, demineralisasi, dan deasetilasi. Selain itu, kitosan diketahui banyak diaplikasikan dalam bidang biomedis sebagai produk antibakteri, oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan uji kemampuan kitosan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian tentang “Isolasi, Karakterisasi Kitin dan Kitosan dari Cangkang Kerang Bulu (*Anadara antiquata*) Serta Uji Aktivitas Kitosan Sebagai Antibakteri”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut maka dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut :

1. bagaimana kondisi optimum proses isolasi kitin dari limbah cangkang kerang bulu dengan metode RSM ?
2. berapa % rendamen kitin dan kitosan dari limbah cangkang kerang bulu yang diperoleh dari proses isolasi secara optimum dan bagaimana karakteristiknya ?
3. berapa konsentrasi kitosan dari limbah cangkang kerang bulu yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* secara *invitro*?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Maksud dari penelitian ini adalah menentukan kondisi optimum, mengisolasi, mengkarakterisasi kitin dan kitosan dari cangkang kerang bulu serta menentukan aktivitasnya sebagai antibakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. mengisolasi dan mengoptimasi kitin dan kitosan dari cangkang kerang bulu menggunakan metode RSM.
2. menentukan rendamen kitin dan kitosan dari cangkang kerang bulu pada kondisi optimum, serta mengkarakterisasi kadar air, kadar abu, kadar N-Total dan derajat deasetilasi.
3. menentukan konsentrasi kitosan dari cangkang kerang bulu yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai upaya dalam pemanfaatan limbah cangkang kerang bulu dan memberikan informasi mengenai karakteristik kitin dan kitosan cangkang kerang bulu serta manfaatnya sebagai antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kerang Bulu (*Anadara antiquata*)

Kerang bulu (*Anadara antiquata*) adalah jenis biota laut yang sampai saat ini pemanfaatannya belum optimal. Kerang bulu (*Anadara antiquata*) merupakan salah satu biota yang mempunyai cangkang, memiliki palupa-palupa pada mulut dan berbulu. Kerang ini biasanya hidup di perairan yang dangkal berpasir dan substrat lumpur. Ciri kerang bulu (*Anadara antiquata*) terdapat pada Gambar 1, yaitu cangkang terdiri dari dua keping yang saling menutup dan berwarna cokelat kehitaman. Bentuk secara keseluruhan hampir bulat, dan pada mulut cangkang banyak ditemukan bulu-bulu kecil (Yusefi, 2011).

Kerang bulu adalah salah satu organisme yang nilai gizinya cukup tinggi. Kerang ini sangat potensial untuk dikembangkan karena terdapat kandungan gizi yang dapat dimanfaatkan oleh tubuh. Salah satu gizi pada kerang bulu yaitu terdapat kandungan protein. Kandungan gizi kerang bulu antara lain protein 12,89%, lemak 2,29%, kadar abu 1,57%, kadar air 79,69%. Kandungan gizi kerang bulu dipengaruhi oleh habitat dan usia kerang bulu (Abdullah dkk., 2013).



Gambar 1. Kerang Bulu (*Anadara antiquata*) (Yusefi, 2011).

Menurut Yusefi (2011) adapun klasifikasi kerang bulu sebagai berikut :

Kingdom : Animalia

Divisio : Moluska

Class : Bivalvia

Ordo : Taxodonta

Family : Arcidae

Genus : *Anadara*

Spesies : *Anadara antiquata*

Manfaat dari kerang bulu diantaranya adalah dapat dikembangkan menjadi penyedap rasa yang sehat karena mengandung asam amino yang tinggi terutama asam glutamat. Selain itu jeroan kerang bulu memiliki kandungan asam amino dan protein yang tinggi sehingga dapat digunakan sebagai bahan pembuatan MPASI untuk meningkatkan penambahan berat badan pada balita. Kandungan taurin pada kerang bulu dapat pula digunakan sebagai pembuatan *isotonic* sebagai sumber daya tubuh. Karena bahan baku yang cukup melimpah dan cangkang kerang mengandung mineral penting diantaranya kalsium dan fosfor. Jenis-jenis kerang, udang, insekta, fungi dan cumi-cumi merupakan sumber kitin kitosan (Arkhianti dkk., 2014).

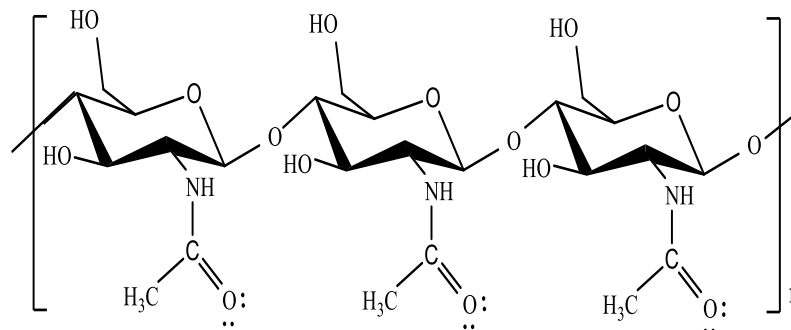
2.2 Kitin

Kitin adalah senyawa karbohidrat yang termasuk dalam polisakarida, tersusun atas monomer-monomer asetil glukosamin yang mempunyai ikatan β -(1-4)-asetamida-2-deoksi-D-glukosa), seperti yang disajikan pada Gambar 2 (Rakhmawati, 2007). Kitin merupakan bahan organik utama

yang terdapat pada kelompok hewan crustaceae, isekta, fungi, *Mollusca*, dan arthropoda. Kitin diketahui terdapat pada kulit siput kepiting, kerang, dan bekicot (Kusumaningsih, 2004). Struktur kitin dapat dilihat pada Gambar 2, dan sumber kitin dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Sumber Kitin (Mursida dkk., 2018).

Sumber	Kadar Kitin (%)
Cangkang Kepiting	50-60
Cangkang Udang	42-57
Cangkang Bekicot	70-80
Cangkang Ranjungan	20-30
Cumi-cumi	14-35
Jamur	5-20
Cangkang Kerang	14-35
Ulat sutra	40



Gambar 2. Struktur kitin (Pontius, 2016)

Menurut Nitsae dkk. (2018), Proses isolasi kitin terdiri melalui beberapa tahapan, yaitu:

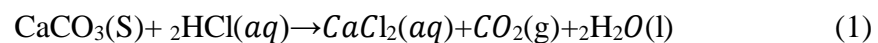
1. Deproteinasi

Deproteinasi bertujuan untuk memisahkan protein pada bahan dasar cangkang menggunakan larutan basa. Efektivitas proses tergantung pada

konsentrasi basa dan suhu yang digunakan karena semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, yang terjadi bukan lagi putusny ikatan hidrogen antar molekul antara kitin dan protein, tetapi diduga terjadi pemutusan ikatan hidrogen antar molekul kelompok asetil.

2. Demineralisasi

Proses demineralisasi bertujuan untuk mengurangi kandungan mineral yang terdapat pada cangkang, khususnya senyawa CaCO_3 . Reaksi demineralisasi diperkirakan seperti pada Persamaan 1.

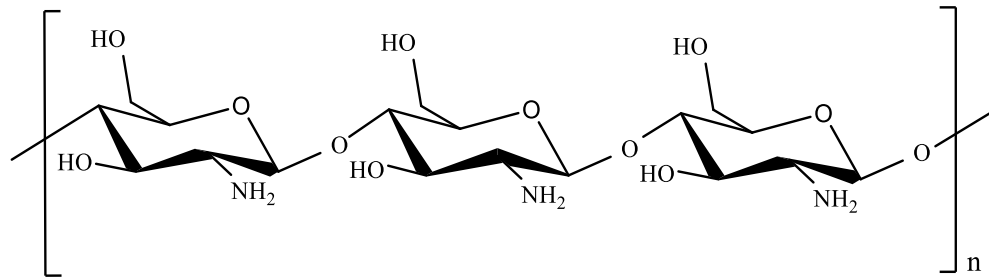


3. Deasetilasi

Deasetilasi bertujuan untuk menghilangkan gugus asetil (CH_3COO) yang terkandung dalam kitin menggunakan basa dengan konsentrasi tinggi dan waktu yang lama agar gugus amina (NH_2) yang tersisa lebih banyak. Proses deasetilasi kitin menjadi kitosan dapat dilakukan secara kimiawi maupun enzimatis. Secara kimiawi, deasetilasi kitin dilakukan dengan penambahan NaOH , sedangkan secara enzimatis digunakan enzim kitindeasetilase (CDA). Menurut Badan Standarisasi Nasional (SNI 7948:2013) standar mutu derajat deasetilasi kitin yaitu berkisar 10-70 %.

2.3 Kitosan

Kitosan adalah suatu senyawa yang memiliki rumus kimia β -(1,4)-2-amino-2 deoksi-D-glukosa. Mutu kitosan dipengaruhi oleh derajat deasetilasi yang merupakan salah satu karakteristik kimia yang paling penting. Derajat deasetilasi kitosan ditentukan oleh beberapa faktor NaOH , suhu dan lama proses deasetilasinya, struktur kitosan disajikan pada Gambar 3 (Prasetyo, 2004).



Gambar 3. Struktur kitosan (Pontius, 2016)

Ciri-ciri kitosan antara lain strukturnya tidak beraturan, berbentuk kristal atau semikristalin. Ini juga bisa berupa padatan amorf putih dengan struktur kristal tetap dari bentuk kitin murni awal. Kitosan memiliki rantai yang lebih pendek dari kitin. Kelarutan kitosan dalam larutan asam dan viskositasnya tergantung pada derajat deasetilasi dan juga derajat degradasi polimer (Harianingsih, 2010). Derajat deasetilasi mempengaruhi sifat fisik, kimia, dan biologi dari kitosan, seperti keasaman dan kebasaan, juga karakteristik elektrostasik, biodegradabilitas, agregasi, sifat penyerapan, dan kemampuan untuk membentuk kelat dengan ion logam. Selain itu, derajat deasetilasi juga dapat digunakan untuk menentukan kemurnian kitosan dan dapat digunakan untuk membedakan kitin dan kitosan (Mursida dkk., 2018). Derajat deasetilasi berkaitan dengan kemampuan kitosan untuk membentuk interaksi isoelektrik dengan molekul lain dan berpengaruh terhadap daya guna kitosan dalam aplikasinya. Kitosan memiliki derajat deasetilasi lebih dari 70% (Apsari & Fitriasti, 2010).

Penghilangan gugus asetil pada gugus asetimida kitin dikenal dengan istilah derajat deasetilasi (DD). Kemurnian kitosan dapat dilihat dari derajat deasetilasinya. Semakin tinggi derajat deasetilasi maka semakin tinggi jumlah gugus amina (NH_2) pada rantai molekul kitosan sehingga kitosan semakin murni. Pengujian standar mutu kitosan perlu dilakukan untuk mengetahui

mutu kitosan yang dikomersialkan (SNI, 2013). Sumber kitosan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Sumber Kitosan (Mursida dkk., 2018).

Sumber	Kadar Kitosan (%)
Cangkang Kepiting	65-80
Cangkang Udang	60-70
Cangkang Bekicot	40-50
Cangkang Ranjungan	20-30
Cumi-cumi	20-35
Jamur	10-20
Cangkang Kerang	60-70
Ulat sutra	30-45

Kitosan memiliki viskositas yang cukup tinggi bila dilarutkan, pelarut yang digunakan untuk melarutkan kitosan adalah asam format, asam asetat, asam laktat, dan asam glutamate. Pengujian standar mutu kitosan perlu dilakukan untuk menentukan kualitas kitosan yang dikomersialisasi (SNI, 2013). Karakteristik kitin dan kitosan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Karakteristik Kitin dan Kitosan (SNI, 2013).

N0.	Jenis uji	Satuan	Persyaratan Kitosan	Persyaratan kitin
1	Bentuk partikel	-	Serbuk	Serbuk
2	Warna	-	Coklat muda- Putih	Coklat muda- putih
3	Zat pengotor	-	Negatif	Negatif
4	Derajat deasetilasi	%	Minimal 75	10-65
5	pH	-	7-8	6-8
6	Kadar abu	%	Maksimal 5	maksimal 5
7	Kadar air	%	Maksimal 12	maksimal 12
8	Kadar N-total	%	Maksimal 7	maksimal 5

2.4 Kitosan Sebagai Antibakteri

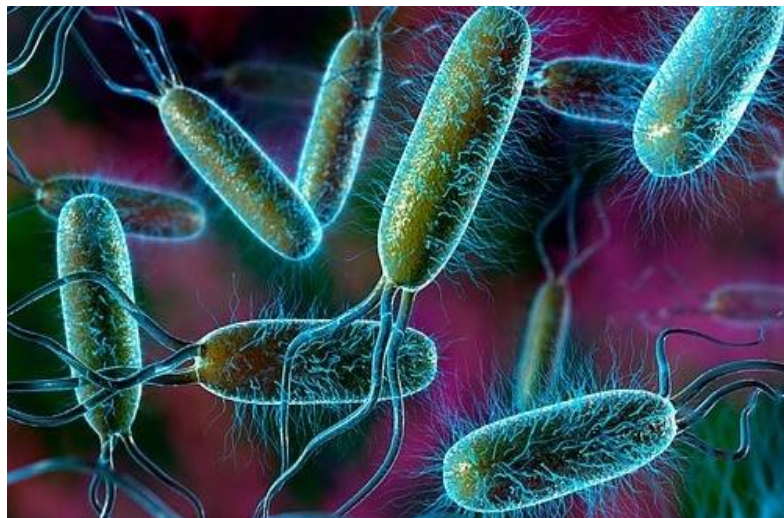
Mekanisme kerja spesifik kitosan sebagai antibakteri adalah afinitas yang sangat kuat yang dimiliki kitosan dengan DNA mikroba sehingga dapat berikatan dengan DNA yang kemudian mengganggu sintesis mRNA dan protein. Afinitas antimikroba kitosan terhadap bakteri atau mikroorganisme tergantung pada derajat deasetilasi. Derajat deasetilasi menunjukkan aktivitas antimikroba yang lebih besar. Kitosan memiliki gugus fungsi amina yang bermuatan positif yang sangat reaktif, sehingga mampu berikatan dengan dinding sel bakteri yang bermuatan negatif. Ikatan ini terjadi pada situs elektronegatif pada permukaan dinding sel bakteri. Selain itu, karena gugus amina juga memiliki pasangan elektron bebas, sehingga gugus ini dapat menarik mineral yang terdapat pada dinding sel bakteri dengan membentuk ikatan kovalen koordinasi. Bakteri Gram negatif dan lipopolisakarida pada lapisan luarnya memiliki kutub negatif yang sangat sensitif terhadap kitosan. Dengan demikian kitosan dapat juga digunakan sebagai antibakteri ataupun pengawet pada berbagai produk pangan karena bersifat aman, tidak berbahaya dan juga harganya relatif murah (Killay, 2013).

Kitosan mempunyai sifat dan mekanisme penghambatan, sehingga dapat digunakan sebagai antibakteri. Antibakteri merupakan bahan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Kitosan dapat berikatan dengan glutamat pada membran sel bakteri. Selain itu, kitosan akan berikatan dengan fosfolipid membran, terutama fosfatidil kolin, yang dapat meningkatkan permeabilitas membran dalam. Peningkatan permeabilitas membran bagian dalam akan

memudahkan cairan sel untuk keluar. Hal ini menyebabkan sitoplasma mengalami lisis sehingga keluar membawa metabolit lain (Trisnawati dkk., 2013).

2.5 Bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* ditemukan pada tahun 1885 oleh Theodor Escherich dan dinamai menurut penemunya. *Escherichia coli* adalah bakteri Gram negatif enterik (*Enterobacteriaceae*) yang merupakan bakteri flora normal yang ditemukan di usus besar manusia. Bakteri ini bersifat patogen jika berada di luar usus yaitu tempat yang normal dimana mereka berada dan tempat lain yang jarang di huni oleh bakteri tersebut (Ilmiawati dkk., 2017). Bakteri ini berbentuk batang pendek lurus dengan ukuran 1,1-1,5 μm , tidak mempunyai kapsul atau spora, bersifat anaerob fakultatif dan mudah tumbuh pada media nutrient sederhana (Pelczar dkk., 2008). Bakteri *E. coli* merupakan bakteri kolon (*Coliforms*) yang sering digunakan sebagai indeks pencemaran air. Sehingga air yang banyak mengandung bakteri dikatakan tercemar (Sumarsih, 2003).



Gambar 4. Bakteri *Escherichia coli* (Barr, 2018)

Menurut Songer dan Post (2005) klasifikasi bakteri *E. coli* sebagai berikut:

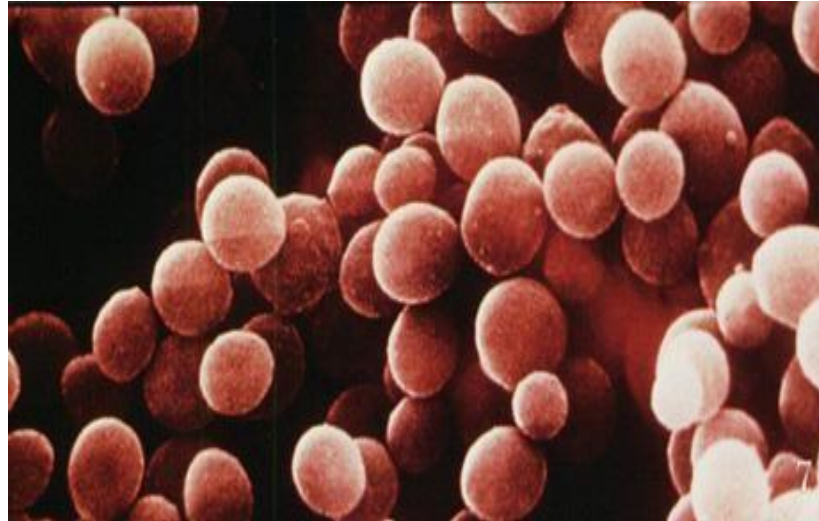
Kingdom : Eubacteria
Divisio : Gracilicutes
Class : Scotobacteria
Ordo : Eubacteriales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli*

Media yang digunakan untuk mendeteksi bakteri Coliform dalam air, makanan, dan produk lainnya adalah Brilliant Green Lactose Broth Media. Media ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan mendorong pertumbuhan bakteri Gram negatif. Ada tidaknya bakteri Gram negatif ditunjukkan dengan terbentuknya asam dan gas yang disebabkan oleh fermentasi laktosa oleh bakteri dari golongan coli (Yodong dkk., 2017). *E. coli* tidak dapat dibunuh dengan pendinginan atau pembekuan. Bakteri ini hanya dapat dibunuh dengan antibiotik, sinar Ultraviolet (UV), atau suhu tinggi >100°C. Suhu tinggi akan merusak protein dalam sel dan membuatnya tidak dapat hidup kembali. *E. coli* yang tidak direkayasa secara genetik umumnya tidak dapat bertahan hidup dengan adanya antibiotik seperti *amphicillin* dan *chloramphenicol* (Girard dkk., 2003).

2.6 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *S. aureus*, merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat dengan diameter 0,7-1,2 µm, tersusun berkelompok tidak beraturan seperti buah anggur,

anaerob fakultatif, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu umum 37 °C tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C). Koloni pada media padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, bulat, halus, menonjol, dan mengkilat (Jawetz dkk., 2008).



Gambar 5. *Staphylococcus aureus* (Todar, 2022).

Menurut Ferianto (2012) klasifikasi bakteri *S. aureus* sebagai berikut:

Kingdom : Eubacteria
Divisio : Protophyta
Class : Schizomycetes
Ordo : Eubacteriales
Family : Micrococceae
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*

Bakteri *S. aureus* adalah bakteri halofilik dan mencakup hingga 20% patogen yang resisten terhadap larutan garam. Bakteri ini menghasilkan toksin yang sulit dihancurkan dengan pemanasan, sehingga meskipun pemanasan dapat

membunuh bakteri, toksin tersebut tetap berbahaya dan dapat menyebabkan keracunan (Febriyanti, 2015).

2.7 Response Surface Methodology (RSM)

RSM atau *response surface methodology* adalah metode statistika yang berguna untuk mengembangkan, meningkatkan, dan mengoptimalkan proses, dimana respon dipengaruhi beberapa faktor (*variable independent*) (Raissi dan Farsani, 2009). Metode RSM dapat digunakan untuk menyelidiki dan memilih kondisi proses yang paling optimal sehingga dapat menghemat biaya, waktu, dan tenaga (Radojkovic dkk., 2012).

Selain itu keunggulan metode RSM ini diantaranya tidak memerlukan data percobaan dalam jumlah yang besar dan tidak membutuhkan waktu lama (Iriawan dan Astuti, 2006). RSM disebut dengan metode respon permukaan dapat digunakan untuk menentukan kondisi proses yang optimum dari berbagai faktor yang dikaji. Metode ini tidak memerlukan data yang banyak, hasil disampaikan dalam bentuk ringkasan grafik dan plot-plot kontur yang mudah dipahami. Metode respon permukaan merupakan sekumpulan teknik matematika dan statistika yang berguna untuk menganalisis permasalahan dimana beberapa variabel independen mempengaruhi variabel respon tujuan akhirnya adalah untuk mengoptimalkan respon (Guna dkk., 2019).

Metode RSM memanfaatkan desain eksperimen dengan bantuan statistika untuk mencari nilai optimal dari suatu respon. Salah satu keuntungan metode ini adalah dapat memudahkan pencarian wilayah optimum dalam suatu percobaan. Terdapat dua bentuk persamaan dalam RSM yaitu persamaan fungsi berorde 1 dan fungsi berorde 2, untuk rancangan RSM berorde 2,

rancangan percobaan bisa menggunakan CCD (*Central Composite Design*) ataupun BBD (*Box Behnken Design*). Model orde dua adalah model yang paling sering digunakan pada metode RSM. Alasannya yaitu model orde dua sangat fleksibel dan dapat berubah dalam bentuk fungsi sesuai kebutuhan, parameter orde dua mudah diestimasi serta model orde dua lebih praktis (Khuri dan Cornell, 1996).