

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

HERYANTI

H031 18 324



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

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

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains*

Oleh:

Heryanti

H0311 18 1324



MAKASSAR

2023

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

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

Disusun dan diajukan oleh

HERYANTI

H031 18 1324

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Sidang Sarjana Program Studi
Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin
Pada 22 Agustus 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

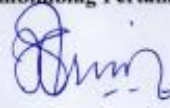
Menyetujui,

Pembimbing Utama



Dr. Seniwati Dali, M.Si.
NIP. 19581231 198803 2 003

Pembimbing Pertama



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 : Heryanti
NIM : H031181324
Program Studi : Kimia
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Isolasi, Karakterisasi Kitin dan Kitosan dari Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) 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, 22 Agustus 2023

Yang Menyatakan,

A 10,000 Indonesian Rupiah postage stamp is placed over the signature. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text '10000', 'METERA', and 'TEMPORER'. The signature is written in black ink over the stamp and the name 'Heryanti'.

Heryanti

PRAKATA

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillah rabbil 'alamin, segala puji bagi Allah *Subhana Wa Ta'ala* tuhan semesta alam yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan Nabi Agung Muhammad SAW yang selalu kita nantikan syafa'atnya di akhirat penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul **Isolasi, Karakterisasi Kitin dan Kitosan dari Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) Serta Uji Aktivitas Kitosan Sebagai Antibakteri** disusun sebagai salah satu persyaratan akademik yang harus dipenuhi untuk menyelesaikan program strata satu (S1) pada Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin nanti.

Penulis mengucapkan syukur kepada Allah *Subhana Wa Ta'ala* atas limpahan nikmat kesehatan, baik sehat fisik maupun akal pikiran, sehingga

Banyak halangan serta hambatan yang penulis lewati selama menyelesaikan skripsi ini. Namun dengan bantuan, dukungan, doa, semangat dan kerja sama dari berbagai pihak sehingga akhirnya skripsi ini dapat diselesaikan. Izinkan penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang tulus kepada Ibu **Dr. Seniwati Dali, M.Si** dan Ibu **Prof. Dr. Hasnah Natsir, M.Si** selaku pembimbing utama dan pertama, yang senantiasa memberikan pengarahan, bantuan, perhatian, dan motivasi selama proses penyelesaian skripsi ini.

Limpahan rasa hormat dan bakti serta doa yang tulus, penulis persembahkan kepada orang tua Ayah dan Ibu tercinta, **Lauseng dan Suhaeri** yang hingga detik ini tidak pernah berhenti mendoakan dan mendukung segalanya. **Saudara penulis Nur Kasyipah, Ahmad Rizaldy dan Ahmad Fauzi.** Keberhasilan penulis sampai pada tahap penulisan skripsi ini tak lepas dari bantuan, baik materil maupun spiritual dari orang-orang di lingkungan penulis. Karena itu penulis menghaturkan terima kasih kepada :

1. Bapak **Dr. Yusafir Hala, M.Si** dan Bapak **Andi Muh. Anshar, S.Si, M.Si** sebagai penguji yang telah meluangkan waktunya untuk memberi saran dan masukan yang sangat berharga.
2. Ibu **Dr. St Fauziah, M.Si** selaku Ketua Departemen dan Ibu **Dr. Nur Umriani Permatasari, M.Si** yang memberikan arahan serta kemudahan kepada penulis dalam mengurus berkas.
3. Analis laboratorium kak Anti, kak Fibi, ibu Tini, kak Linda, pak Iqbal dan kak nure, terima kasih atas bantuan dan kritikan serta sarannya pada saat penelitian sehingga sangat membantu menyelesaikan penelitian ini.
4. Seluruh **Dosen dan Staff Akademik Unhas** yang membimbing dan mengarahkan penulis hingga ketahap ini.
5. Teman-teman **Hibridiasi 18** yang selama ini telah berjuang melewati masa studi dan yang masih berusaha untuk menyelesaikan studi di departemen Kimia FMIPA Unhas.
6. Sahabat **Ririn** yang selalu memberikan semangat dan membantu penulis dalam penyelesaian setiap permasalahan penulis dan juga selalu mendengarkan keluh kesah penulis selama proses ini yang membuat penulis tetap bertahan.

7. Sahabat-sahabat terbaik penulis **Lambe Turah** (Viny, Risna, Mita dan Dito) yang selalu menemani dan memberikan dukungan sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
8. Teman seperjuangan dalam menyelesaikan penelitian ini, saudari **Viny Ery Widyastuti**.
9. Sahabat **Kos Pondok Putri Amaliah** (Fitri, Viny dan Oe) yang selalu menemani suka dan duka penulis, serta sudah berjuang bersama.
10. Teman-teman **Keluarga Cemara** (Hira, Rindi, Oe, Rara dan Nina) yang banyak menemani, membantu dan memberikan pelajaran ke penulis.
11. Anak-anak **Radiasi geng** (Lala, Zulfa, Chandra dan Ibnu) yang selalu memberi ruang dan tempat untuk nongkrong, terkhusus kawan Lala yang selalu menemani penulis diakhir prosesnya.
12. Teman-teman sesama **Peneliti Biokimia Departemen Kimia FMIPA Unhas** (Eka, Namira, Viny, Ilham, Ike, Jeje, Wahda, Ijul, Fatimah, Nining dan Feni) yang selalu berbagai saran dan pendapat, saling menyemangati dan memotivasi selama berjalannya penelitian ini.
13. Teman-teman **KMFMIPA UNHAS 18**, terkhusus Amel, Irma, Tara dan Uci yang telah mendengarkan banyak keluh kesah dari penulis.
14. Sahabat **Indah** yang senantiasa menemani penulis untuk mencari inspirasi mengerjakan skripsi.
15. Seseorang yang pernah bersama saya terimakasih untuk patah hati yang diberikan saat proses penyusunan skripsi, sehingga saya dapat membuktikan bahwa saya bisa menyelesaikan proses ini. Terimakasih telah menemani penulis dari semester 4-9.

16. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu dalam kesempatan ini.

Semoga segala bentuk bantuan yaitu doa, saran, motivasi dan pengorbanan yang telah diberikan kepada penulis dapat bernilai ibadah dan diganjarkan pahala disisi Allah *Subhallahu wa Ta'ala*, Aamiin

Penulis sadar akan segala kekurangan dalam penulisan skripsi ini, maka penulis sangat menghargai bila ada kritik dan saran demi penyempurnaan isi skripsi ini. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang membaca maupun bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Makassar, 22 Agustus 2023

Penulis

ABSTRAK

Penelitian Isolasi, Karakterisasi Kitin dan Kitosan dari Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*) serta Uji Aktivitas Kitosan sebagai Antibakteri telah dilakukan dengan tujuan optimasi proses isolasi kitin, produksi kitin dan kitosan pada kondisi optimum, 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 4.06% dan kitosan 3.28%. Kadar abu pada kitin sebesar 1.95% dan kitosan sebesar 1.64%. Kadar N-Total pada kitin sebesar 0.45 % dan kitosan sebesar 0.39%. Derajat deasetilasi yang diperoleh pada kitin yaitu 69.6% dan pada kitosan sebesar 85%. 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.

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

ABSTRACT

Research on isolation, characterization of chitin and chitosan from blood clam shells (Anadara granosa) and chitosan their application as an antibacterial has been carried out with the aim of optimizing the process of chitin isolation, chitin and chitosan production under optimum conditions, 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 4.06% and chitosan is 3.28%. Ash content in chitin is 1.95% and chitosan is 1.64%. Total N levels in chitin is 0.45 % and chitosan is 0.39%. The degree of deacetylation obtained in chitin is 69.6% and chitosan is 85%. 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.

Keywords: *chitin, chitosan, E.coli, blood clam shell, S. aureus*

DAFTAR ISI

	halaman
PRAKATA.....	vi
ABSTRAK.....	x
ABSTRACT.....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR SIMBOL DAN ISTILAH.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Maksud Penelitian.....	5
1.3.2 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Kerang Darah (<i>Anadara granosa</i>).....	7
2.2 Kitin.....	9
2.3 Kitosan.....	11

2.4 Pemanfaatan Kitosan	13
2.5 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	15
2.6 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	16
2.7 Senyawa Antibakteri	17
2.8 Aktivitas Kitosan Sebagai Antibakteri	18
2.9 Response Surface Methodology (RSM).....	19
BAB III METODE PENELITIAN.....	20
3.1 Bahan Penelitian.....	20
3.2 Alat Penelitian	20
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	20
3.4 Prosedur Penelitian.....	21
3.4.1 Preparasi cangkang kerang darah.....	21
3.4.2 Isolasi Kitin	21
3.4.3 Produksi Kitin pada Kondisi Optimum.....	23
3.4.4 Deasitilasi kitin.....	24
3.4.5 Karakterisasi kitin dan kitosan	25
3.4.6 Uji Antibakteri.....	27
3.4.6.1 Pembuatan Media <i>Mueller-Hinton Agar</i> (MHA).....	27
3.4.6.2 Peremajaan Bakteri Uji	28
3.4.6.3 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji.....	28
3.4.6.4 Pembuatan Larutan Kitosan	28
3.4.6.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	28

3.4.7 Analisis Statistik.....	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Optimasi Deproteinasi.....	30
4.2 Optimasi tahap Demineralisasi.....	34
4.3 Produksi Kitosan	39
4.4 Karakterisasi Kitin dan Kitosan.....	40
4.4.1 Kadar Air Kitin dan Kitosan.....	40
4.4.2 Kadar abu.....	40
4.4.3 Kadar N-Total.....	41
4.4.4 Analisis Gugus Fungsi dan Derajat Deasitilasi Kitin.....	41
4.4.5 Analisis Gugus Fungsi dan Derajat Deasitilasi Kitosan.....	43
4.5 Uji Aktivitas Antibakteri Kitosan.....	45
BAB V.....	49
5.1 Kesimpulan.....	49
5.2 Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA	50

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Data Penangkapan Kerang Darah.....	8
2. Sumber Kitin.....	9
3. Sumber Kitosan	12
4. Design Eksperimen Deproteinasi.....	23
5. Design Eksprimen Demineralisasi	24
6. Hasil optimasi deproteinasi kitin terhadap perlakuan konsentrasi NaOH,temperatur dan lama waktu pengadukan.....	33
7. <i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) deproteinasi kitin.	34
8. Hasil optimasi demineralisasi kitin terhadap perlakuan konsentrasi HCl,temperatur dan lama waktu pengadukan.....	37
9. <i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) demineralisasi kitin	38
10. Hasil uji kadar air, kadar abu, kadar protein dan derajat deasitilasi.....	41
11. Karakteristik Gugus Fungsi Kitin.....	44
12. Karakteristik Gugus Fungsi Kitosan	45
13. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Kitosan	47
14. Hasil Penelitian Terkait Kitosan Serta Ujiaktivitasnya sebagai Antibakteri.....	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Kerang Darah (<i>Anadara granosa</i>)	7
2. Struktur kitin	9
3. Struktur kitosan	11
4. Bakteri <i>E. coli</i>	15
5. Bakteri <i>S. aureus</i>	16
6. Variasi Optimasi Deproteinasi.....	32
7. Penentuan Titik Optimum Deproteinasi	35
8. Variasi Optimasi Tahap Demineralisasi.....	37
9. Penentuan Titik Optimum Demineralisasi	40
10. Reaksi Kitin Menjadi Kitosan.....	41
11. Spektrum FTIR Kitin	43
12. Spektrum FTIR Kitosan.....	45

DAFTAR SIMBOL DAN ISTILAH

FTIR	= <i>Fourier Transform Infra Red</i>
CKD	= Cangkang Kerang Darah
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>

DAFTAR LAMPIRAN

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

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kerang darah dengan nama latin *Anadara granosa* adalah salah satu jenis kerang yang mudah ditemukan di kawasan Asia Tenggara dan Asia Timur. Kerang ini dapat menghasilkan cairan merah yang berisi hemoglobin sehingga biasa disebut kerang darah (Masindi dan Herdyastuti, 2017). Kerang darah merupakan hewan yang hidup di daerah intertidal dengan substrat pasir berlumpur terutama pada lumpur lunak. Kerang ini merupakan komoditi komersial yang menjadi sumber pangan. Permintaan yang terus meningkat menyebabkan kerang ini menjadi salah satu target utama penangkapan diperairan Indonesia (Nurjannah dkk, 2021).

Kerang darah merupakan jenis kerang yang banyak dimanfaatkan sebagai makanan pengganti lauk di Indonesia. Kelimpahan kerang darah di Indonesia menurut Direktorat Jendral Perikanan Tangkap Indonesia, yaitu dihasilkan sebanyak 48,994 ton/tahun (Bahri dkk, 2015). Provinsi Sulawesi khususnya di Sulawesi Selatan menurut data kementerian kelautan dan perikanan provinsi Sulawesi Selatan, produksi kerang darah mencapai 660,6 ton pertahun. Kerang darah memiliki potensi yang besar sehingga berdampak pada peningkatan limbah cangkang kerang darah yang dihasilkan. Limbah yang dibiarkan menumpuk tanpa adanya penanganan akan menimbulkan pencemaran serta menyebabkan estetika lingkungan disuatu wilayah dapat terganggu (Mahary, 2017).

Cangkang kerang diketahui memiliki beberapa kandungan senyawa kimia yaitu kitin, kalsium karbonat, kalsium hidroksiapatit dan kalsium posfat. Sebagian besar cangkang mengandung kitin, kitin merupakan polisakarida alami yang memiliki banyak kegunaan, seperti bahan pengkelat, pengemulsi dan adsorben. Selain itu cangkang kerangpun dapat dimanfaatkan menjadi kitosan yang merupakan bentuk turunan dari kitin (Kyoondkk, 2003). Secara umum isolasi kitin menjadi kitosan terdiri dari deproteinasi, demineralisasi dan deasetilasi. Deproteinasi merupakan proses untuk memisahkan ikatan antara kitin dan protein dengan menggunakan larutan basa kuat. Demineralisasi merupakan proses untuk menghilangkan garam mineral pada sampel dengan penambahan pelarut asam kuat. Deasetilasi merupakan proses pengubahan gugus asetamida menjadi gugus amina (Masindi dan Herdyastuti, 2017).

Tingkat kemurnian kitin yang dihasilkan dapat dilihat dari derajat deasetilasi. Derajat deasetilasi adalah salah satu karakteristik kimia. Derajat deasetilasi merupakan nilai hilangnya gugus asetil pada gugus asetamida kitin atau banyaknya gugus amino yang dihasilkan setelah proses deasetilasi. Derajat deasetilasi kitin ditentukan oleh beberapa faktor yaitu konsentrasi NaOH, suhu dan lama proses deasetilasinya. Semakin banyak gugus asetil yang hilang (derajat deasetilasi), maka semakin baik pula kualitas kitosan (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 respon permukaan yang merupakan metode statistik dan

matematika teknik yang berguna untuk mengembangkan, meningkatkan dan mengoptimalkan proses. Gagasan utama dari metode ini adalah 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).

Kitosan telah banyak digunakan sebagai antimikroba alami pada bahan pangan dan makanan karena memiliki muatan positif. Polikation yang bermuatan positif pada kitosan dapat berinteraksi dengan permukaan sel bakteri yang bermuatan negatif, sehingga dapat mengganggu pertumbuhan bakteri, kitosan menjadi pilihan sebagai antimikroba karena bersifat alami serta tidak membahayakan bagi kesehatan (Umiruddin dan Surahmida, 2019).

Bakteri penyebab infeksi dan penyakit banyak ditemui di lingkungan sekitar kita termasuk pada bakteri *Escheria coli* dan *Staphylococcus auerus* yang juga merupakan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Bakteri *E. coli* ditemukan dalam usus manusia yang berperan dalam proses pengeluaran zat sisa pada saluran pencernaan dan menginfeksi usus sehingga menimbulkan diare. Begitu pula dengan bakteri *S. auerus* yang dapat menyebabkan penyakit pneumonia, luka, radang paru-paru dan endocarditis. Bakteri *S. auerus* ini dapat bertahan hidup pada lingkungan yang mengandung garam dengan konsentrasi yang tinggi. Bakteri *S. auerus* mudah berkembangbiak karena dapat bertumbuh pada suhu optimum sekitar 30°C (Magani dkk,2020).

Beberapa penelitian sebelumnya seperti yang dilakukan oleh Masindi dan Herdyastuti pada tahun 2017 “Karakterisasi Kitosan dari Cangkang Kerang Darah (*Anadara granosa*)”, dihasilkan karakteristik kitosan yaitu kadar air sebesar 1,16 %, kadar abu 1,25 % dan derajat deasetilasi 91,7 %. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Agustina dkk pada tahun 2015 “Isolasi Kitin, Karakterisasi, Dan Sintesis Kitosan Dari Kulit Udang”, dihasilkan karakteristik kitosan sebagai berikut rendamen transformasi kitin menjadi kitosan 67,08%, memiliki tekstur berwarna putih, tidak berbau, memiliki kadar air 1,55% dan derajat deasetilasi sebesar 84,85%.

Berdasarkan uraian pada latar belakang, maka telah dilakukan penelitian tentang proses isolasi produksi kitin dan kitosan pada kondisi optimum dengan metode RSM serta pengujian kitosan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang maka rumuskan masalah penelitian ini sebagai berikut :

1. bagaimana kondisi optimum proses isolasi kitin dari limbah cangkang kerang darah dengan metode RSM ?
2. berapa kadar kitin dan kitosan dari limbah cangkang kerang darah yang diperoleh dari proses isolasi secara optimum ?
3. bagaimana karakteristik kitin dan kitosan dari limbah cangkang kerang darah ?
4. bagaimana aktivitas kitosan dari limbah cangkang kerang darah sebagai antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*?
5. berapa konsentrasi kitosan dari limbah cangkang kerang darah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, maka maksud dari penelitian ini adalah menentukan kondisi optimum, mengisolasi, mengkarakterisasi kitin dan kitosan dari cangkang kerang darah serta menentukan aktivitasnya sebagai antibakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah maka tujuan penelitian ini adalah:

1. mengisolasi dan mengoptimasi kondisi optimum dari cangkang kerang darah menggunakan metode RSM.

2. menentukan kadar kitin dan kitosan dari cangkang kerang darah pada kondisi optimum.
3. mengkarakterisasi kadar air, kadar abu, kadar N-Total dan derajat deasetilasi kitin dan kitosan dari cangkang kerang darah.
4. menganalisis aktivitas kitosan dari cangkang kerang darah sebagai antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.
5. menentukan konsentrasi kitosan dari cangkang kerang darah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

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

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kerang Darah (*Anadara granosa*)

Anadara Granosa merupakan salah satu jenis dari tiram perahu yang dikenal dengan nama kerang darah. Kerang darah mempunyai dua keping cangkang yang tebal dan berbentuk elips yang dapat menutup dengan menggunakan otot adukor dalam tubuhnya. Cangkang kerang darah berwarna putih dan ditutupi oleh periostrakum yang berwarna kuning kecoklatan sampai coklat kehitaman, seperti yang disajikan pada Gambar 1. Cangkang kerang terdiri dari tiga lapisan, yaitu lapisan pertama periostrakum adalah lapisan terluar dari kitin yang berfungsi sebagai pelindung. Lapisan kedua prismatic tersusun dari kristal-kristal kapur yang berbentuk prisma, dan lapisan ketiga nakreas atau disebut lapisan induk mutiara. Kerang darah hidup di daerah pasang surut, umumnya ditemukan pada lahan pantai yang berada di antara daerah ratahan pasang dan ratahan surut. Kerang darah hidup di daerah tropik pada lumpur halus atau kadang-kadang di pasir berlumpur dan dilindungi atau berasosiasi dengan pohon-pohon bakau (Nurjannah dkk, 2021).



Gambar 1. Kerang Darah (*Anadara Granosa*) (Nurjannah dkk, 2021)

Menurut Nurjannah., dkk (2021) adapun klasifikasi kerang darah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia

Divisio : Moluska

Class : Bivalvia

Ordo : Arcoida

Family : Arcidae

Genus : *Anadara*

Spesies : *Anadara granosa*

Kerang darah merupakan sebagai sumber penghasilan sebagian masyarakat pesisir di Indonesia selama bertahun-tahun, seperti data yang disajikan pada Tabel 1. Pengolahan kerang darah memberi keuntungan bagi masyarakat pesisir berupa terciptanya lapangan kerja, baik sebagai nelayan ataupun budidaya. Jenis kerang ini banyak dijadikan sebagai makanan pengganti lauk di Indonesia (Santoso, 2022).

Tabel 1. Data Penangkapan Kerang Darah

No.	Tahun	Hasil Tangkap (ton)
1.	2022	50,889
2	2021	48,978
3	2020	47,581

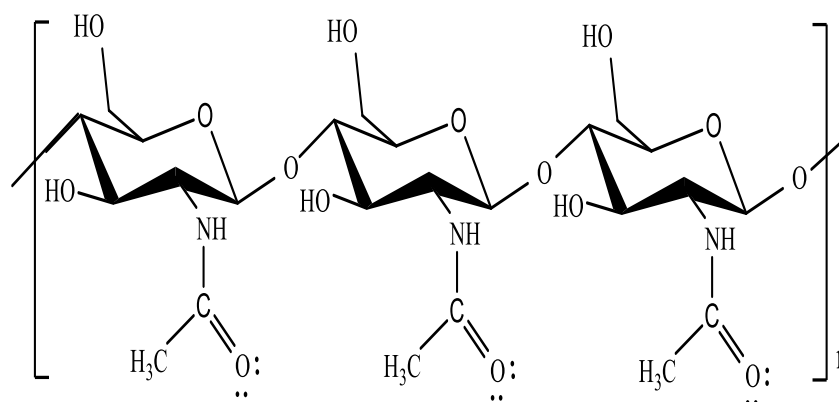
Pemanfaatan kerang darah merupakan usaha untuk memanfaatkan bahan baku lokal yang mudah didapatkan dan sering ditemui sebagai limbah bagi masyarakat. Kulit kerang darah merupakan bahan sumber mineral yang pada umumnya berasal dari hewan laut. Kandungan kalsium dalam cangkang kerang adalah sekitar 38% (Mahary, 2017).

2.2 Kitin

Kitin dikenal sebagai polisakarida yang paling melimpah setelah selulosa. Kitin umumnya banyak dijumpai pada hewan avertebrata laut, darat dan jamur. Beberapa sumber kitin dapat dilihat pada Tabel 2. Keberadaan kitin di alam umumnya terikat pada protein mineral dan berbagai macam pigmen. Kitin merupakan poli β -(1-4)-asetamida-2-deoksi-D-glukosa) dengan rumus molekul $(C_8H_{13}NO_5)_n$ yang tersusun atas 47% C, 6% H, 7% N dan 40% O, struktur kitin disajikan pada Gambar 2 (Sugita dkk., 2009).

Tabel 2. Sumber Kitin

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



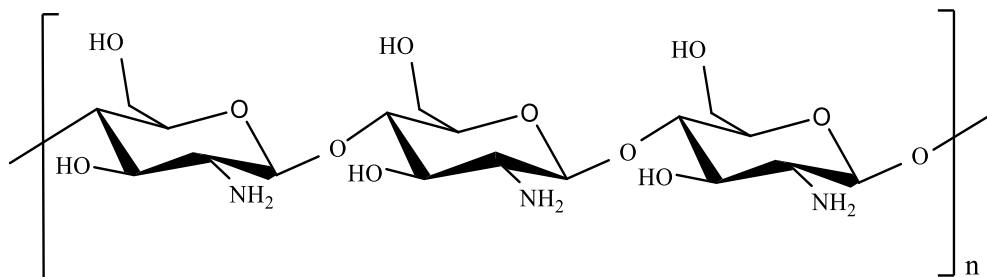
Gambar 2. Struktur kitin (Pontius, 2016)

Kitin mempunyai sifat-sifat yang unik yaitu stabil di dalam larutan alkali yang pekat pada temperatur tinggi, dapat diproduksi kembali secara biologi di alam, tidak beracun, serta mudah mengalami degradasi secara biologi atau dipengaruhi oleh faktor suhu dan waktu. Kitin memiliki kelarutan dan reaktifitas yang rendah dikarenakan adanya ikatan yang kuat melalui inter dan intra molekul ikatan hidrogen pada struktur kimianya. Ikatan hidrogen dari residu ikatan amida dan N-asetil glukosamin ini menyebabkan tingginya kristalinitas dari molekul kitin. Kristalinitas merupakan sifat penting pada polimer yang menunjukkan ikatan antara rantai molekul sehingga menghasilkan susunan molekul yang lebih teratur (Agusnar, 2004).

Kitin diisolasi melalui 3 tahap yaitu deproteinasi, demineralisasi dan depigmentasi. Tahap deproteinasi merupakan tahap untuk melepaskan ikatan protein dengan menggunakan larutan basa. Proses deproteinasi akan mempengaruhi kualitas kitin dari segi kadar protein. Semakin kecil kadar protein semakin baik kualitas kitin yang dihasilkan. Proses deproteinasi dapat dilakukan dengan penambahan pereaksi kimia seperti NaOH. Tahap selanjutnya adalah demineralisasi, yaitu tahap penghilangan senyawa-senyawa anorganik dan komponen-komponen mineral. Proses penghilangan mineral dapat dilakukan dengan menggunakan larutan asam seperti HCl. Tahap terakhir adalah depigmentasi yang bertujuan menghilangkan pigmen warna maupun zat-zat pengotor, pada tahap ini dapat digunakan larutan natrium hipoklorit, aseton ataupun hidrogen peroksida (Sartika dkk., 2016).

2.3 Kitosan

Kitosan merupakan turunan dari kitin yang merupakan hasil dari deasetilasi kitin, dengan struktur (β -(1-4)-2-amino-2-deoksi-D-glukosa), struktur kitosan disajikan pada gambar 3. Kitosan terbentuk dari hasil proses deasetilasi kitin. Proses deasetilasi kitin menjadi kitosan dapat dilakukan dengan cara kimiawi maupun enzimatis. Proses kimiawi menggunakan pelarut basa, misalnya NaOH, dan dapat menghasilkan kitosan dengan derajat deasetilasi yang tinggi yaitu mencapai 85-93% (Sugita dkk, 2009). Kitosan merupakan suatu polimer yang bersifat polikationik. Keberadaan gugus hidroksil dan amino sepanjang rantai polimer mengakibatkan kitosan sangat aktif mengikat kation ion logam berat maupun kation dari zat-zat organik (protein dan lemak) (Agustina dkk, 2015).



Gambar 3. Struktur kitosan (Pontius, 2016)

Sifat-sifat kitosan dihubungkan dengan adanya gugus-gugus fungsi amina, gugus hidroksi primer dan hidroksi sekunder. Adanya gugus ini menyebabkan kitosan mempunyai kereaktifan kimia yang tinggi dibandingkan kitin. Gugus-gugus fungsi tersebut menyebabkan kitosan dapat berinteraksi dengan zat-zat organik seperti protein, sehingga kitosan relatif lebih banyak digunakan pada berbagai bidang industri terapan dan kesehatan. Kitosan merupakan senyawa yang tidak larut dalam air, larutan basa kuat, sedikit larut

dalam H₂SO₄. Kitosan mudah mengalami degradasi. Kitosan dapat dengan mudah berinteraksi dengan zat-zat organik seperti protein (Azhar dkk, 2010).

Kitosan merupakan produk biologis yang bersifat kationik, nontoksik, biodegradable dan biokompatibel. Kitosan memiliki gugus amino (NH₂) yang relatif lebih banyak dibandingkan kitin sehingga lebih nukleofilik dan bersifat basa. Kristalinitas kitosan yang disebabkan oleh ikatan hidrogen intermolekuler maupun intramolekuler lebih rendah dibandingkan kitin sehingga lebih mudah diaplikasikan dalam beberapa reagen. Kitosan tidak larut dalam air dan beberapa pelarut organik seperti dimetilsulfoksida (DMSO), dimetilformamida (DMF), pelarut alkohol organik dan piridin. Kitosan larut dalam asam organik atau mineral encer melalui protonasi gugus amino bebas (NH₂ →NH₃⁺) pada pH kurang dari 7 (Gyliene dkk., 2003).

Kitosan diketahui merupakan bahan alam terbesar kedua yang tersedia di alam semesta setelah selulosa. Bahan ini dapat dihasilkan dari molusca bercangkang (*shellfish*), seperti kulit udang, ranjungan dan kerang. Beberapa sumber kitosan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Sumber Kitosan

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
Kalajengking	25-40
Ulat sutra	30-45

2.4 Pemanfaatan Kitosan

Menurut Bahri dkk (2015) kitosan banyak dimanfaatkan diberbagai bidang yaitu :

1. Bidang pertanian, tanaman yang diperlakukan dengan kitosan memiliki ketahanan yang baik terhadap serangan jamur.

Penelitian yang dilakukan oleh Holipah dkk., (2010) dengan judul penelitian “ Aplikasi Kitosan Sebagai Pengawet Alami Dalam Meningkatkan Mutu Simpan Produk Pasca Panen”. Kitosan merupakan salah satu jenis pelapis *edible* dari kelompok polisakarida selain selulosa, pektin, pati, karagenan dan gum. Kitosan dapat digunakan sebagai pengawet karena sifat-sifat yang dimilikinya yaitu dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme perusak dan sekaligus melapisi produk yang diawetkan sehingga terjadi interaksi yang minimal antara produk dan lingkungannya. Mekanisme kerja kitosan memiliki afinitas yang kuat dengan DNA mikroba sehingga dapat berikatan dengan DNA yang kemudian mengganggu mRNA dan sintesa protein (Holipah dkk., 2010).

2. Bidang kesehatan, kitosan bermanfaat dalam program diet karena kemampuannya menurunkan jumlah kolestrol, antikoagulan dalam darah serta digunakan sebagai agen antibakteri.

Penelitian yang dilakukan oleh Magani dkk., (2020) dengan judul “Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan Terhadap Pertumbuhan Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Antibakteri Nanopartikel kitosan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* bersifat bakteriostatik dimana antibakteri ini berhasil menekan atau mencegah pertumbuhan bakteri uji pada konsentrasi 0,5 %. Kemampuan kitosan yang diolah menjadi nanokitosan memiliki efektivitas yang besar karena ukurannya yang lebih kecil (Magani dkk., 2020).

3. Bidang bioteknologi, kitosan dimanfaatkan sebagai zat yang berperan dalam imobilisasi enzim, pemisahan protein dan regenerasi sel.

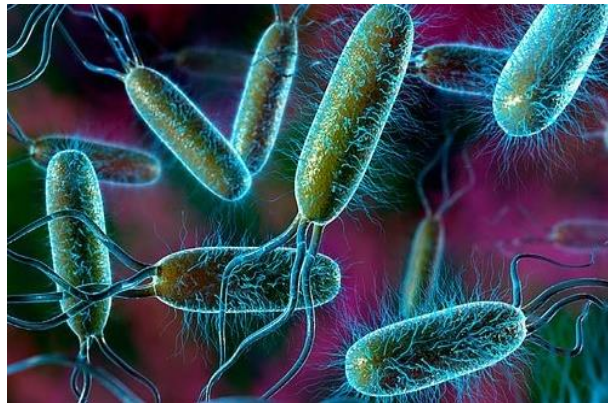
Penelitian yang dilakukan oleh Mahargyani dkk., (2017) dengan judul penelitian “ Imobilisasi Lipase Pada Kitosan Serbuk Dengan Metode Pengikatan Silang Dan Uji Aktivitas Transesterifikasinya”. Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini, lipase terimobilisasi dapat digunakan sebagai katalis pada reaksi transesterifikasi yang merupakan reaksi dasar untuk produksi biodisel. Lipase terimobilisasi memiliki stabilitas penggunaan ulang yang lebih baik dibanding lipase bebas, sehingga dapat mengefisienkan penggunaan katalis. Selain itu, penggunaan kitosan sebagai matriks imobilisasi dapat meningkatkan nilai guna dan ekonomi dari limbah cangkang kepiting (Mahargyani dkk., 2017).

4. Bidang industri makanan, kitosan digunakan sebagai antioksidan, pengawet alami penyerapan zat warna dan pengemulsi. Kitosan juga dimanfaatkan sebagai bioabsorben.

Penelitian yang dilakukan oleh Soegiarto dkk., (2016) dengan judul penelitian “ Aplikasi Kitosan Sebagai Bahan Pengawet Alami Dari Kulit Udang Pada Sosis Daging Sapi”. Dimana sosis daging sapi yang direndam pada kitosan memiliki umur simpan lebih lama dari sosis daging sapi yang tidak direndam dengan kitosan. Perendaman sosis daging sapi dalam kitosan (0%, 1%, 1,5%, dan 2%) selama 60 menit dapat memperpanjang umur simpan sosis pada suhu ruang hingga 2 hari. Kitosan dapat digunakan sebagai pengawet karena sifat-sifat yang dimilikinya yaitu dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme perusak, kitosan juga melapisi produk yang diawetkan, sehingga terjadi interaksi yang minimal antara produk dan lingkungan (Soegiarto dkk., 2016).

2.5 Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan salah satu jenis bakteri koliform yang termasuk dalam famili enterobacteriaceae. Enterobacteriaceae merupakan bakteri enterik atau bakteri yang hidup dan bertahan dalam saluran pencernaan, khususnya dapat ditemukan didalam usus. *E. coli* merupakan bakteri berbentuk batang pendek lurus, bersifat gram negatif, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora dan mudah tumbuh pada nutrient yang sederhana, seperti yang disajikan pada Gambar 4 (Rahayu dkk, 2018).



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

Menurut Brooks dkk.,N (2001) taksonomi Bakteri *E. coli* sebagai berikut:

Kingdom	: Eubacteria
Divisio	: Gracilicutes
Class	: Scotobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

Bakteri *E. coli* merupakan bakteri yang sering dijumpai pada usus manusia dan hewan. Bakteri ini umumnya menyebabkan diare ringan, namun bila jumlahnya terlalu banyak akan menyebabkan penyakit usus serius seperti sakit perut, demam dan infeksi saluran kemih. *E. coli* menginfeksi melalui air atau makanan yang terkontaminasi, seperti pada sayuran mentah dan daging yang tidak matang. Infeksi bakteri *E. coli* lebih sering menyerang wanita dibandingkan pria, dan dapat menyerang anak-anak hingga dewasa (Margata dan Meliala, 2021).

2.6 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *S. aureus*, disajikan pada Gambar 5, merupakan bakteri gram positif yang berbentuk bulat dengan diameter 0,8-1,0 mikron dan tersusun bergerombol tidak beraturan, kadang-kadang seperti untaian buah anggur, tidak dapat bergerak dan tergolong bakteri aerob sampai anaerob fakultatif. *S. aureus* merupakan mikroorganisme yang normal ada di kulit, hidung, tenggorokan dan saluran pencernaan manusia. Bakteri ini banyak dijumpai pada selaput hidung, kulit dan kantung rambut (Rollando, 2019).



Gambar 5. *Staphylococcus aureus* (Yazhed, 2016)

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* merupakan penyebab terjadinya infeksi yang bersifat piogenik. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini biasanya timbul dengan tanda-tanda khas yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses, serta dapat menyebabkan berbagai macam infeksi seperti pada jerawat, bisul atau nanah. Bakteri *S. aureus* kemampuannya berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan tubuh serta adanya beberapa zat ekstrakurikuler yang dapat diproduksi *S. aureus* dapat menimbulkan berbagai penyakit. Keracunan bahan pangan yang tercemar *S. aureus* umumnya ditemukan pada produk pangan yang telah dimasak pada daging dan ayam (Tuntun, 2016).

2.7 Senyawa Antibakteri

Senyawa antibakteri merupakan zat yang dapat menghambat atau membunuh bakteri dengan penyebab infeksi. Infeksi disebabkan oleh bakteri atau mikroorganisme yang patogen, dimana mikroba masuk ke dalam jaringan tubuh dan berkembang biak di dalam jaringan. Di antara bakteri yang dapat menyebabkan infeksi salah satunya adalah *S. aureus*. *S. aureus* dapat menyebabkan pneumonia, meningitis, empiema dan endocarditis. Mekanisme kerja senyawa yang bersifat antibakteri ada beberapa macam, yaitu merusak

dinding sel mikroorganisme hingga terjadi lisis, mengubah permeabilitas membran sitoplasma, menghambat kerja enzim didalam sel, merusak molekul protein dan asam nukleat (Paju dkk, 2013).

Faktor-faktor yang berpengaruh pada aktivitas zat antibakteri adalah pH, suhu, stabilitas senyawa, jumlah bakteri yang ada, lama inkubasi dan aktivitas metabolisme bakteri (Tuntun, 2016). Agen senyawa antibakteri dapat digolongkan menurut jasad renik yang dibasmi, yaitu antibiotik, antivirus, antifungi, antiprotozoa dan antihelminthes. antibakteri juga dibagi menjadi dua kelompok luas, yaitu golongan bakteristatik yang menghambat replikasi mikroba, dan golongan bakterisidal yang secara bekerja secara utama membunuh mikroba (Brown dkk., 2012).

2.8 Aktivitas Kitosan Sebagai Antibakteri

Antibakteri berbahan dasar kitosan adalah gugus fungsional amina dan kitosan memiliki kemampuan menyerap dari kitosan yang mempunyai muatan positif. Sementara itu, sel membran mikroba bermuatan negatif. Muatan positif dan negatif ini akan berinteraksi secara elektrostatis yang menyebabkan membran mengalami tekanan osmotik di dalam sel tidak seimbang menghalangi pertumbuhan mikroba. Selain itu, di dalam sel juga terjadi peristiwa hidrolisis dalam dinding sel yang menyebabkan keluarnya cairan elektrolit sel sehingga menyebabkan sel mati (Windari, 2019).

Kitosan memiliki sifat antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan mikroorganisme pemusuk termasuk bakteri gram positif dan gram negatif. Adanya polikation yang bermuatan positif kitosan dapat menekan pertumbuhan bakteri penyebab penyakit. Kitosan sekarang banyak diolah oleh para ahli menjadi ukuran nanopartikel yang berkisar 100-400 nm.

Kemampuan kitosan yang diolah menjadi nanokitosan memiliki kemampuan adsorpsi yang lebih baik dikarenakan memiliki permukaan yang spesifik dan ukurannya yang lebih kecil. Nanokitosan yang berukuran kecil dapat dengan mudah masuk dalam sel bakteri. Aktivitas antibakteri nanopartikel kitosan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. Aureus* dan *E.Coli* (Magani dkk, 2020).

2.9 Response Surface Methodology (RSM)

RSM atau biasa 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).