

**ISOLASI, KARAKTERISASI DAN KAJIAN APLIKASI
KITOSAN DARI CANGKANG BEKICOT *Achatina fulica*
SEBAGAI ANTIMIKROBA DAN ANTIBIOFILM UNTUK
MENCEGAH PERIODONTITIS PADA GIGI**

*ISOLATION, CHARACTERIZATION AND STUDY OF
APPLICATIONS OF CHITOSAN FROM *Achatina fulica* SNAIL
SHELLS AS ANTIMICROBIAL AND ANTIBIOFILM TO
PREVENT PERIODONTITIS IN DENTAL*

**SULASTRI
H012202009**



**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**ISOLASI, KARAKTERISASI DAN KAJIAN APLIKASI
KITOSAN DARI CANGKANG *Achatina fulica* SEBAGAI
ANTIMIKROBA DAN ANTIBIOFILM UNTUK MENCEGAH
PERIODONTITIS PADA GIGI**

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelas magister

Program Studi Kimia

Disusun dan diajukan oleh

SULASTRI

H012202009

**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

TESIS

ISOLASI, KARAKTERISASI DAN KAJIAN APLIKASI KITOSAN DARI
CANGKANG BEKICOT *Achatina Fulica* SEBAGAI ANTIMIKROBA DAN
ANTIBIOFILM UNTUK MENCEGAH PERIODONTITIS PADA GIGI

SULASTRI

NIM: H012202009

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam
rangka Penyelesaian Studi Program Magister Kimia Fakultas Matematika
dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin

pada tanggal 26 Juli 2023

dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama

Prof. Dr. Hasnah Natsir, M.Si
NIP. 196203201987112001

Pembimbing Pendamping

Dr. Abdul Karim, M.Si
NIP. 196207101986031002

Ketua Program Studi
Magister Kimia

Prof. Dr. Hasnah Natsir, M.Si
NIP. 196203201987112001

Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin

Dr. Eng. Amiruddin, M.Si
NIP. 197205151997021002

**PERNYATAAN KEASLIAN TESIS
DAN KELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Isolasi, Karakterisasi dan Kajian Aplikasi Kitosan dari Cangkang Bekicot *Achatina Fulica* Sebagai Antimikroba dan Antibiofilm untuk Mencegah Periodontitis Pada Gigi" adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing (Prof. Dr. Hasnah Natsir, M.Si sebagai Pembimbing Utama dan Dr. Abdul Karim, M.Si sebagai Pembimbing Pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan di *ICMSE (International Conference on Mathematics and Science Education 1st) Halu Oleo University* sebagai artikel dengan judul "*Solvent Optimization, Syntesis, and Characterization of Chitosan from Snail Shells Achatina Fulica*".

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 10 Juli 2023

Sulastri



NPM: H012202009

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Kuasa karena berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul **“Isolasi, Karakterisasi dan Kajian Aplikasi Kitosan dari Cangkang *Achatina Fulica* Sebagai Antimikroba dan Antibiofilm Untuk Mencegah Periodontitis Pada Gigi”**.

Kepada kedua orang tua tercinta, ayahanda **Hendrik Wellem** dan ibunda tercinta **Adolfina Upa** terima kasih untuk setiap semangat, motivasi, bantuan, kasih sayang dan doa yang senantiasa tak henti-hentinya diberikan kepada penulis, semoga Tuhan senantiasa memberikan rahmat berupa kasih sayang, keteguhan hati di atas segalaNya. Terima kasih juga kepada Suami tercinta **Ardiles Yacob T** yang sudah berjuang bersama dengan penulis serta anak ku tersayang **Christian Bryan T** yang menjadi penyemangat dalam menyelesaikan tugas akhir penulis, dan saudara kandung penulis **Hendra Wellem** yang selalu memberikan motivasi yang dijadikan sebagai penyemangat penulis dalam mengerjakan tugas akhir ini.

Ucapan terima kasih dan penghargaan penulis sampaikan kepada seluruh pihak yang membantu dalam proses penyelesaian tesis ini, terutama kepada ibunda **Dr. Hj. Hasnah Natsir, M.Si** selaku pembimbing utama dan ayahanda **Drs. Abd. Karim, M.Si**, selaku pembimbing pertama yang menjadi orang tua penulis di kampus dan senantiasa meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya dalam membimbing dan memberikan masukan yang baik terutama dalam penyelesaian penulisan ini. Tak lupa pula

penulis menghaturkan permohonan maaf yang sebesar-besarnya atas semua kesalahan yang tidak disengaja yang pernah dilakukan penulis hingga penulisan tesis ini diselesaikan.

Penulis juga tak lupa mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ayahanda **Prof. Dr. H. Abbdul Wahid Wahab, M.Si**, Ibu **Dr. St. Fauziah, M.Si**, dan Ayahanda **Dr. H. Yusafir Hala, M.Si** selaku penguji.
2. Bapak **Iccang** dan Ibu **Kiki** yang membantu segala urusan yang berkaitan dengan administrasi.
3. Analis Laboratorium di Departemen Kimia, terkhusus untuk **Ibu Mahdalia, S.Si, M.Si** dan **Wahyudin Rauf, S.Si** selaku analis laboratorium Biokimia atas bantuan semangat serta arahannya selama penelitian berlangsung.
4. Ibu **Balqis**, Ibu **Tika** dan Ibu **Herlina** selaku dosen dan rekan bercanda.
5. Semua rekan kerja **SMA FRATER Makassar**.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan kesalahan dalam penyusunan Tesis ini, oleh karena itu saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat bagi penulis dan semua orang yang membaca tulisan ini. Amin.

Penulis

2023

ABSTRAK

SULASTRI. ***Isolasi, Karakterisasi dan Kajian Aplikasi Kitosan dari Cangkang Bekicot Achatina Fulica Sebagai Antimikroba dan Antibiofilm Untuk Mencegah Periodontitis Pada Gigi*** (dibimbing oleh Hasnah Natsir dan Abdul Karim).

Penyakit gigi dan mulut masalah yang banyak dialami oleh hampir setengah populasi penduduk dunia. Telah banyak dilakukan penelitian untuk mencegah masalah ini seperti periodontitis pada gigi dengan menggunakan kitosan sebagai pencegah pertumbuhan mikroorganisme penyebabnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi kitosan yang berasal dari cangkang *A. fulica* melalui proses deproteinasi, demineralisasi dan depigmentasi dan dilanjutkan dengan proses deasetilasi. Pada proses deasetilasi, gugus asetil akan hilang dan hanya menyisakan gugus amino yang bermuatan positif yang bersifat kationik dan sangat menentukan sifat fungsional dari kitosan. Karakterisasi kitin dan kitosan meliputi kadar air, abu, derajat deasetilasi dan uji kelarutan. Penelitian ini dilakukan beberapa karakterisasi dengan menggunakan metode: penentuan kadar air, kadar abu, analisis FTIR, uji kelarutan, serta dilakukan pengaplikasian terhadap uji antibakteri dan uji antibiofilm. Hasil isolasi kitosan memiliki derajat deasetilasi sebesar 85,6%. Karakteristik kitosan *A. fulica* diperoleh rendemen akhir kitosan sebesar 45,77% kadar abu 56,28% kadar air 0,12% serta larut dalam asam asetat dengan konsentrasi 2%. Kitosan efektif bersifat antimikroba terhadap *C. albicans* pada konsentrasi 20.000 ppm dan efektif terhadap bakteri *P. gingivalis* dan *A. actinomycetemcomitans* pada konsentrasi 20.000 ppm dan efektif uji antibiofilm. Hasil isolasi kitosan memiliki derajat deasetilasi sebesar 85,6%. Karakteristik kitosan *A. fulica* diperoleh rendemen akhir kitosan sebesar 45,77% kadar abu 56,28% kadar air 0,12% serta larut dalam asam asetat dengan konsentrasi 2%. Kitosan efektif bersifat antimikroba terhadap *C. albicans* pada konsentrasi 20.000 ppm dan efektif terhadap bakteri *P. gingivalis* dan *A. actinomycetemcomitans* pada konsentrasi 20.000 ppm pada waktu inkubasi 24 jam, serta efektif terhadap uji antibiofilm.

Kata kunci: *Kitosan, Kitin, Achatina fulica, Antimikroba, Antibiofilm dan Periodontitis.*

ABSTRACT

SULASTRI. ***Production, Characterization and Study of Application of Chitosan from Achatina Fulica Snail Shells as Antimicrobial and Antibiofilm to Prevent Periodontitis in Teeth*** (Supervised by Hasnah Natsir dan Abdul Karim).

Dental and oral disease is a problem experienced by almost half of the world's population. Many studies have been carried out to prevent this problem such as periodontitis in the teeth by using chitosan as a deterrent to the growth of microorganisms that cause it. This study aims to isolate chitosan from *A. fulica* shells through deproteination, demineralization and depigmentation processes and followed by deacetylation processes. In the deacetylation process, the acetyl group will be lost leaving only the positively charged amino group which is cationic and greatly determines the functional properties of chitosan. Characterization of chitin and chitosan included water content, ash, deacetylation degree and solubility test. In this study several methods were carried out: deproteination, demineralization, depigmentation, deacetylation, and several characterization methods were carried out using: freezing water content, ash content, FTIR analysis, assay solubility, as well as application to the antibacterial test and anti-biofilm test. The result of chitosan isolation has a degree of deacetylation of 85.6%. Characteristics of chitosan *A. fulica* obtained the final yield of chitosan of 45.77% ash content 56.28% water content 0.12% and soluble in acetic acid with a concentration of 2%. Chitosan is effective antimicrobial against *C. albicans* at a concentration of 20,000 ppm and effective against *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans* bacteria at a concentration of 20,000 ppm and is effective as an antibiofilm test. Chitosan isolation results have a degree of deacetylation of 85.6%. Characteristics of chitosan *A. fulica* obtained the final yield of chitosan of 45.77% ash content 56.28% water content 0.12% and soluble in acetic acid with a concentration of 2%. Chitosan is antimicrobial against *C. albicans* at a concentration of 20,000 ppm and is effective against *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans* bacteria at a concentration of 20,000 ppm at 24-hour incubation time, and is effective against the anti-biofilm test.

Key Word: *Chitosan, Chitin, Achatina fulica, Antimicrobial, Antibiofilm and Periodontity*

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN DAN SIMBOL	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Bekicot (<i>Achatina fulica</i>)	6
B. Kitin	8
C. Kitosan	10
D. Kesehatan Gigi dan Mulut	14
E. Antimikroba	16
1. <i>Candida albicans</i>	18
2. <i>Porphyromonas gingivalis</i>	20
3. <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	22
4. Mekanisme Kerja Antimikroba	23
F. Biofilm dan Antibiofilm	26

G. Kerangka Konseptual	28
H. Hipotesis	29
BAB III METODE PENELITIAN	31
A. Waktu dan Tempat Penelitian	31
B. Alat Penelitian	31
C. Bahan Penelitian	31
D. Prosedur Penelitian	32
1. Isolasi Kitin	32
1.1 Preparasi Sampel Cangkang <i>Achatina fulica</i>	32
1.2 Deproteinasi	33
1.3 Demineralisasi	33
1.4 Depigmentasi	33
2. Pembuatan Kitosan	34
3. Karakterisasi Kitosan	34
3.1 Rendemen	34
3.2 Kadar Air	34
3.3 Kelarutan kitosan	35
3.4 Uji Ninhidrin	35
4. Analisis Derajat Deasetilasi (IR)	36
5. Analisis GC-MS	37
6. Uji Antimikroba	38
7. Uji Antibiofilm	38
BAB IV HASIL PENELITIAN.....	40
A. Isolasi Kitin dari Cangkang Bekicot <i>Achatina Fulica</i>	40
B. Karakterisasi Kitosan.....	44
C. Uji Antimikroba	49
D. Hasil Uji Antibiofilm	55
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	59
A. KESIMPULAN.....	59
B. B. SARAN	59
DAFTAR PUSTAKA	60

LAMPIRAN	71
----------------	----

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Karakteristik Standar Nasional Indonesia Kitosan	13
2. Rendemen Kitin dari Cangkang <i>Achatina fulica</i>	40
3. Karakterisasi Kitin dan Kitosan dari <i>A. fulica</i>	44
4. Hasil FT-IR Kitin dan Kitosan	47
5. GC-MS Kitosan <i>Achatina fulica</i>	49
6. Aktivitas uji anti jamur kitosan dengan variasi konsentrasi	51
7. Aktivitas antibakteri (<i>Porphyromonas gingivalis</i>)	53
8. Aktivitas antibakteri (<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>).....	54

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. <i>Achatina fulica</i>	7
2. Struktur kimia kitin	9
3. Struktur kimia kitosan	10
4. Proses deasetilasi kitin menjadi kitosan	12
5. Struktur dinding sel bakteri	24
6. Struktur dinding sel jamur	25
7. Skema kerangka konseptual	28
8. Proses demineralisasi	41
9. Proses deasetilasi kitin	43
10. FT-IR Kitin dan Kitosan	46
11. FT-IR kitin murni	47
12. FT-IR kitosan murni	48
13. GC-MS kitosan cangkang bekicot <i>Achatina fulica</i>	49
14. Uji antijamur <i>Candida albicans</i>	51
15. Uji antibiofilm kitosan cangkang bekicot <i>Achatina fulica</i>	56
16. Hasil Uji Antibiofilm	57

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Diagram alur penelitian	71
2. Bagan prosedur penelitian.....	72
3. Gambar Penelitian.....	75
4. Uji Antibifilm Kitosan dari Cangkang <i>A. fulica</i>	82
5. FT-IR Kitin dan Kitosan	83
6. GC-MS Kitosan.....	85

DAFTAR SINGKATAN DAN SIMBOL

CDT	: <i>Cytolethal Distending Toxin</i>
EPS	: <i>Extracellular Polymeric Substance</i>
FT-IR	: <i>Fourier Transform Infrared</i>
IR	: <i>Infrared</i>
NA	: <i>Nutrient Agar</i>
NB	: <i>Nutrient Broth</i>
OD	: <i>Optical Density</i>
PDA	: <i>Potato Dextrose Agar</i>
PDB	: <i>Potato Dextrose Broth</i>
QS	: <i>Quorum Sensing</i>
AOAC	: <i>Association of Official Analytical Chemists</i>

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kesehatan gigi dan mulut merupakan masalah yang banyak dialami oleh hampir setengah populasi penduduk dunia, salah satu diantaranya adalah periodontal atau gangguan pada gusi. Periodontal merupakan penyebab utama kehilangan gigi diawali dengan gingivitis atau pembengkakan pada gusi akibat plak yang jika tidak diobati akan menjadi periodontitis (Rismawati dkk., 2020).

Periodontitis adalah salah satu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri plak yang dapat menghancurkan gigi dan jaringan pada gusi. Proses infeksi ini dapat terjadi karena adanya interaksi mikroorganisme dengan produk bakteri (plak) dan berkurangnya respon imun, hal ini terkait dengan aktivitas mikroba subgingiva (Syukrianto dan Umarudin, 2020).

Mikroba subgingiva sangat beragam dan kompleks, termasuk bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Beberapa mikroba subgingiva, diantaranya *Streptococcus mutans*, *Treponema denticola*, *Bacteroides forsythus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis* dan *Candida albicans* (Ding, dkk., 2014; Kodir dkk., 2014; Ridhwana dkk., 2020; Cilmiaty dkk., 2013; Xu dkk., 2017). Mikroba subgingiva ini sangat merugikan karena dapat menyebabkan

masalah serius pada kesehatan mulut dan gigi. Salah satu upaya dalam mengatasi masalah yang ditimbulkan oleh mikroba ini dapat dilakukan dengan memanfaatkan kitosan sebagai penghambat terjadinya plak.

Kitosan merupakan polimer yang banyak digunakan dalam biomedis dan farmasetik karena memiliki sifat antara lain biodegradabel, biokompatibel, bersifat antimikroba, dan tidak toksik (Cheung dkk., 2015). Kitosan memiliki derajat deasetilasi lebih dari 70%. Jika pada kitosan hasil isolasi memiliki derajat deasetilasi kurang dari 70% maka, kitosan yang diisolasi masih tergolong kitin. Polikationik kitosan dapat berinteraksi dengan membran bermuatan negatif dan mengubah morfologi permukaan bakteri, yang dapat meningkatkan permeabilitas membran, menyebabkan kebocoran zat intraseluler (mengurangi fungsi membran), dan mencegah masuknya nutrisi pada mikroorganisme. Mekanisme ini menjadi dasar senyawa kitosan sebagai antimikroba (Sasikumar dkk., 2017).

Kitosan dapat diproduksi dari kitin yang bersumber dari cangkang hewan, seperti pada cangkang kepiting, kerang dan salah satu diantaranya adalah bekicot *Achatina fulica* (*A. fulica*). Hewan *Achatina fulica* merupakan hewan yang menjadi hama penyakit bagi tanaman dan dapat menurunkan kualitas produk panen. Meskipun demikian, daging *Achatina fulica* dapat dijadikan sebagai bahan lauk dan Sebagian besar digunakan sebagai obat tradisional. Manfaat lain dari bekicot *Achatina fulica* pada cangkangnya karena banyak mengandung zat kitin yaitu berkisar antara 70% - 80% (Rismawati dkk., 2020).

Pemanfaatan cangkang *A. fulica* sebagai kitosan telah banyak dikaji oleh beberapa peneliti, anatarlain; Syukrianto & Umarudin (2020) mengaplikasikan kitosan cangkang *A. fulica* sebagai pengawet pada tahu putih; Rismawati dkk. (2020) memanfaatkan kitosan asetat cangkang *A. fulica* sebagai antibakteri pada kain katun dengan mikroba uji *Staphylococcus aureus*; dan Sudjarwo dkk. (2019) melaporkan adanya aktivitas antijamur nanopartikel kitosan dalam menghambat jamur *Candida albicans* pada konsentrasi optimum 40.000 ppm.

Kitosan juga dapat digunakan sebagai antimikroba dan antibiofilm yang telah dikaji oleh beberapa peneliti sebelumnya, antara lain Aguayo dkk. (2020) menentukan kapasitas antimikroba dan antibiofilm dari nanopartikel kitosan terhadap strain *Pseudomonas sp.* yang diisolasi dari susu sapi. Selanjutnya, Siddhardha dkk. (2019) menggunakan nano partikel kitosan bermuatan *chrysin* untuk menentukan aktivitas antibiofilm terhadap *S. aureus*. Kemudian, Nugrahani dkk. (2016) menentukan konsentrasi efektif daya antibiofilm kitosan dari cangkang udang terhadap *Streptococcus viridans*. Saat ini, belum ada penelitian tentang penghambatan kitosan *A. fulica* terhadap biofilm mikroba penyebab periodontitis, sehingga penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui potensi kitosan dari cangkang *A. fulica* pada berbagai konsentrasi terhadap biofilm mikroba yang merupakan penyebab utama periodontitis.

Aktivitas kitosan sebagai penghambat pertumbuhan mikroorganisme, memunculkan hipotesis yang dapat dimanfaatkan sebagai antibiotik. Penggunaan antibiotik untuk menanggulangi penyakit ini sudah banyak dilakukan, tetapi sangat beresiko untuk digunakan secara terus menerus. Resistensi patogen adalah efek samping yang dapat terjadi setelah antibiotik digunakan secara tidak terkendali. Antibiotik adalah kelompok obat yang digunakan untuk mengatasi dan mencegah infeksi bakteri, seperti pada periodontitis pada gigi (Nugrahani dkk., 2016).

Berdasarkan informasi yang telah diuraikan pada latar belakang, maka penelitian mengenai produksi, karakterisasi dan kajian terhadap kitosan dari cangkang *A. fulica* sebagai antimikroba dan antibiofilm.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah

1. apakah proses isolasi kitosan dari cangkang *A. fulica* dapat menghasilkan derajat deasetilasi >70%?
2. bagaimana karakteristik kitosan yang diproduksi dari cangkang *A. fulica*?
3. bagaimana efektivitas kitosan dari cangkang *A. fulica* sebagai antimikroba antibiofilm pada berbagai konsentrasi?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk

1. mengisolasi kitosan dari cangkang *A. fulica*. dengan derajat deasetilasi >70%,
2. menentukan karakteristik kitosan dari cangkang *A. fulica*,
3. menentukan efektivitas kitosan dari cangkang *A. fulica* sebagai antimikroba dan antibiofilm.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang produksi, karakteristik dan aplikasi kitosan dari cangkang *A. fulica* sebagai antimikroba dan antibiofilm.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Bekicot (*Achatina fulica*)

Bekicot (*Achatina fulica*) merupakan salah satu hewan dengan kelimpahan spesies yang cukup besar. *A. fulica* merupakan golongan hewan lunak (*Mollusca*) yang termasuk dalam kelas *gastropoda*. Hewan ini merupakan salah satu siput darat yang badannya lunak dan dilindungi oleh cangkang yang keras mempunyai daging yang kaya protein dan cangkang bekicot kaya kalsium (Andhika & Syauqiah, 2016), seperti terlihat pada Gambar 1. Bekicot (*Achatina fulica*) mempunyai daging yang kaya protein dan cangkang bekicot kaya kalsium (Andhika & Syauqiah, 2016). *A. fulica* berjalan menggunakan otot perutnya. Pada saat kondisi lembab atau basah, *A. fulica* akan aktif. Sedangkan pada kondisi lingkungan yang kering, *A. fulica* cenderung bersembunyi di bawah permukaan tanah atau di dalam cangkangnya. Hasil panen berupa daun atau bunga merupakan makanan yang cocok bagi perkembangan *A. fulica*. *A. fulica* hidup di kondisi tanah yang bersih dari sampah anorganik. *A. fulica* merupakan hewan invertebrata yang hemaprodit. *A. fulica* bertelur pada saat usia satu tahun, dalam kondisi optimum, *A. fulica* dapat bertelur hingga empat kali dalam setahun (Ningrum, 2012).

A. fulica yang semula berasal dari bagian timur Afrika telah masuk Indonesia lewat Kalimantan sejak tahun 1939. *A. fulica* umumnya hidup tersebar di daratan yang lembab. Hewan ini tidak tahan terhadap sinar

matahari langsung dan aktif di malam hari (nokturnal) (Handayani dkk., 2019).



Gambar 1. *Achatina fulica* (Rayandi, 2012)

Menurut Rayandi (2012), taksonomi bekicot adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Filum : Mollusca
Kelas : Gastropoda
Ordo : Pulmonata
Famili : Achatinidae
Genus : Achatina
Spesies : *Achatina fulica*

A. fulica memakan berbagai tanaman termasuk tanaman budidaya sehingga *A. fulica* termasuk salah satu hama bagi tanaman. Banyaknya tanaman yang mati menyebabkan petani menggunakan pestisida untuk membasmi hewan ini sehingga hewan ini mati dan meninggalkan cangkangnya. Cangkang yang ditinggalkan akan membusuk sehingga akan

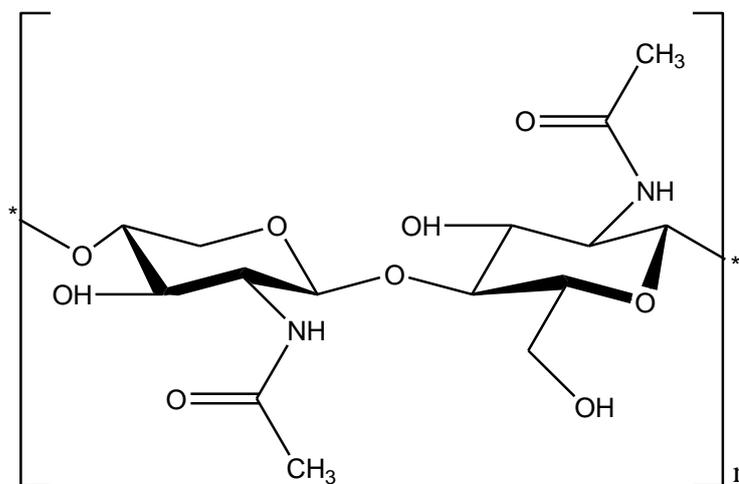
menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan (Ridwanto dkk., 2016). Limbah cangkang *A. fulica* memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai sumber bahan baku dalam memproduksi kitosan karena mengandung zat kitin sekitar 70% - 80% (Rismawati dkk., 2020).

B. Kitin

Kitin merupakan bahan organik utama yang terdapat pada kelompok hewan *mollusca*, *crustaceae*, insekta, dan *arthropoda*. Kitin telah lama diketahui terdapat pada cangkang kepiting, udang, dan lobster dengan kandungan kitin 20-50% (Mursida dkk., 2018). Kitin juga diketahui terdapat pada bekicot, siput, dan kerang (Kusumaningsih dkk., 2004).

Kitin termasuk golongan polisakarida yang mempunyai berat molekul tinggi dan merupakan molekul polimer berantai lurus dengan nama lain β -(1-4)-2-asetamida-2-dioksi-D-glukosa (N-asetil-D-Glukosamin), seperti terlihat pada Gambar 2. Kitin umumnya tidak berbentuk murni, melainkan suatu kombinasi bersama dengan substansi lain seperti protein, kalsium karbonat, dan pigmen. Kitin mempunyai sifat stabil terhadap pengaruh pereaksi kimia tidak beracun dan dapat terurai secara biologis (biodegradabel) mempunyai kemampuan membentuk senyawa kompleks dengan iodium, bromide dan kolestrol. Kitin memiliki struktur yang hampir sama dengan selulosa dimana ikatan yang terjadi antara monomernya terangkai dengan ikatan glikosida pada posisi β -(1-4). Perbedaan kitin

dengan selulosa adalah gugus hidroksil yang terikat pada atom karbon yang kedua pada kitin diganti oleh gugus asetamida (NHCOCH_2) sehingga kitin menjadi sebuah polimer berunit N-asetil glukosamin. Unit monomer kitin memiliki rumus molekul $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{NO}_5$ dengan kadar C 47 %, H 6 %, N 7% dan O 40 % (Aji & Meriatna, 2012).



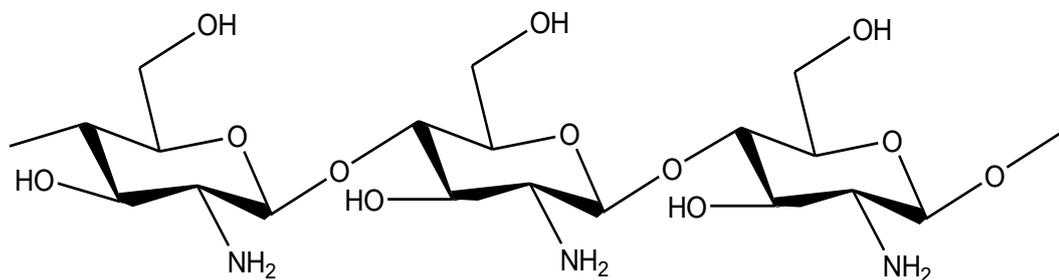
Gambar 2. Struktur kimia kitin (Aji & Meriatna, 2012)

Kitin dapat diisolasi melalui proses demineralisasi dan deproteinasi. Proses deproteinasi bertujuan mengurangi kadar protein dengan menggunakan larutan NaOH dan pemanasan yang cukup. Pada tahap demineralisasi, mineral yang terkandung dalam sampel akan bereaksi dengan HCl . Tahap demineralisasi dimaksudkan untuk menghilangkan mineral (CaCO_3) dengan menggunakan asam konsentrasi rendah untuk mendapatkan kitin. Mineral utamanya adalah CaCO_3 dan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ dalam jumlah sedikit. Mineral tersebut dapat dihilangkan dengan penambahan larutan HCl . Proses demineralisasi menimbulkan terbentuknya gelembung

gas CO₂ yang merupakan indikator adanya reaksi HCl dengan garam mineral (Victor dkk., 2016).

C. Kitosan

Kitosan merupakan polimer dari proses deasetilasi kitin yang memiliki sifat non toksik dan dapat terbiodegradasi. Kitosan juga bersifat hidrofilik, anti bakteri dan polielektrolit sehingga dapat dengan mudah berinteraksi dengan zat-zat organik lainnya seperti protein. Kitosan mempunyai rumus molekul (C₆H₁₁NO₄)_n dan nama kimia poli-D-glukosamin-((1,4)-2-amino-deoksi-D-glukosa), seperti terlihat pada Gambar 3. Struktur kitosan mirip dengan kitin dan selulosa, namun terdapat perbedaan yang terletak pada posisi C-2 dimana pada kitosan posisi C-2 adalah gugus amina, sedangkan pada kitin posisi C-2 adalah gugus asetamida (Imtihani & Permatasari, 2020; Mohadi dkk., 2007; Prayogo & Rachmawani, 2011).

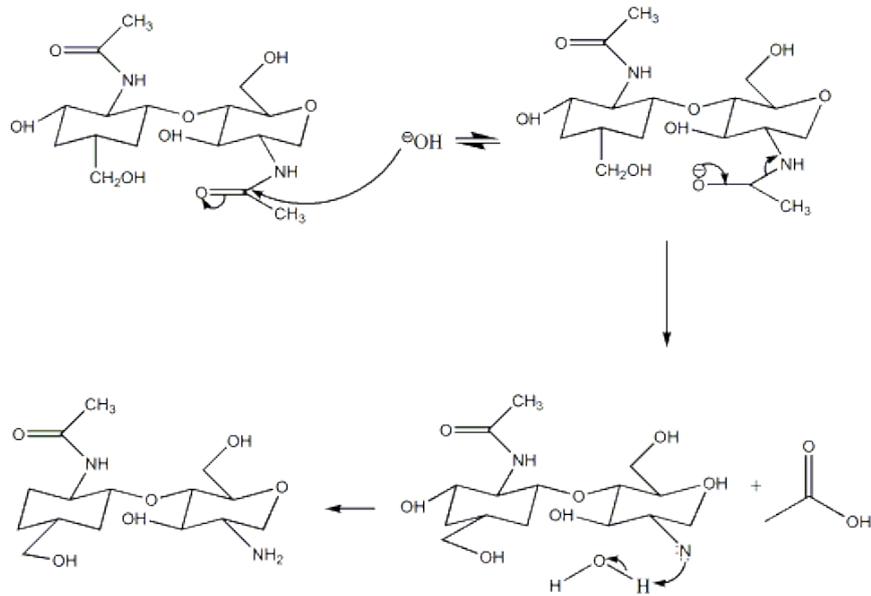


Gambar 3. Struktur kimia kitosan (Imtihani & Permatasari, 2020)

Kitosan dapat digunakan dalam berbagai bidang, diantaranya dibidang pertanian, biokimia, obat-obatan, pangan dan gizi, serta industri,

seperti industri makanan aditif, kertas, tekstil, kosmetik dan lain sebagainya. Kitosan juga sering digunakan sebagai antibiofilm pada *Candida albicans*. Pemanfaatan kitosan sebagai antibiofilm digunakan untuk pencegahan pertumbuhan bakteri dan jamur (Kurniawan, 2009).

Sintesis kitosan terjadi dengan cara menghilangkan tiga komponen besar yaitu protein melalui deproteinasi dan kalsium karbonat dengan cara demineralisasi dan gugus asetil dengan cara deasetilasi. Deproteinasi merupakan suatu tahap dalam penghilangan protein yang dilakukan dengan cara menambahkan NaOH. Demineralisasi adalah tahap pelepasan mineral yang terdapat dalam kitin melalui penambahan HCl dengan konsentrasi rendah. Pada proses deasetilasi dilakukan dengan jalan mereaksikan hasil demineralisasi dengan basa kuat NaOH pada konsentrasi 50%, dengan tujuan memutuskan ikatan antara gugus asetil dengan nitrogen, sehingga menjadi gugus amina yang terdapat pada kitosan. Metode sintesis kitosan tersebut merupakan metode sintesis kitosan secara kimiawi. Selain itu, terdapat pula metode lain dalam mensintesis kitosan terbagi dua yaitu secara enzimatik. Metode enzimatik menggunakan enzim dari maupun bakteri sedangkan kimiawi dengan cara zat kimia dalam prosesnya (Thariq dkk., 2016).



Gambar 4. Proses deasetilasi kitin menjadi kitosan (Agustina dkk., 2015)

Kitosan memiliki karakteristik standar yang dapat dilihat pada Tabel 1. Karakteristik kitosan diantaranya struktur yang tidak teratur dan berbentuk kristalin atau semikristalin. Selain itu, kitosan dapat berbentuk padatan amorf berwarna putih dengan struktur kristal tetap dari bentuk awal kitin murni. Kitosan mempunyai rantai yang lebih pendek daripada rantai kitin. Kitosan tidak larut dalam air, namun larut dalam larutan asam sehingga untuk dapat melarutkan kitosan digunakan pelarut asam format/air, asam asetat/air, asam laktat/air dan asam glutamat/air. Kitosan memiliki tingkat kemurnian yang bergantung pada derajat deasetilasi dan derajat degradasi polimer. Kitosan kering tidak mempunyai titik lebur dan jika disimpan dalam jangka waktu yang relatif lama pada suhu sekitar 100°F , maka sifat keseluruhannya dan kemurniannya akan berubah. Bila kitosan disimpan lama dalam keadaan terbuka maka akan terjadi dekomposisi warna menjadi kekuningan dan viskositasnya menjadi berkurang (Thariq dkk., 2016).

Tabel 1. Karakteristik Standar Nasional Indonesia Kitosan (Rahmania, 2018/Direktorat Pengolahan dan Bina Mutu).

Jenis Uji	Satuan	Persyaratan
Kadar Air	%	maks. 12
Kadar Abu	%	maks. 5
Derajat Deasetilasi	%	min. 75
Nitrogen	%	maks. 5
Logam Berat Arsen	mg/kg	maks. 5
Logam Berat Pb	mg/kg	maks. 5
pH		7-8

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).

Pada proses deasetilasi, gugus asetil akan hilang dan hanya menyisakan gugus amino yang bermuatan positif jika berada pada kondisi asam (bersifat kationik) dan sangat menentukan sifat fungsional dari kitosan (Thariq dkk., 2016).

Karakterisasi kitin dan kitosan meliputi penentuan kadar air menggunakan metode gravimetri, penentuan kadar abu, perhitungan

derajat deasetilasi menggunakan metode Base Line pada spektrum hasil pengujian menggunakan spektrometri infra merah. FTIR adalah teknik analitis untuk molekul organik, dengan rentang IR (4000 cm^{-1} - 400 cm^{-1}) yang menginformasikan tentang struktur dan gugus fungsi dalam analit. FTIR dapat digunakan secara kuantitatif, sebagai energi yang diserap pada panjang gelombang tertentu sebanding dengan jumlah obligasi terkait energi, sehingga dengan konsentrasi yang lebih besar dari analit lebih banyak energi akan diserap (Musfiroh dkk., 2019). Selain analisis menggunakan FTIR untuk mengkarakterisasi dari kitosan yang diperoleh dilakukan juga validasi komponen dari senyawa menggunakan GC-MS. Metode GC-MS adalah sebuah metode uji yang menggabungkan metode kromatografi gas dan spektrofotometri massa sehingga dapat memisahkan dan mengidentifikasi satu demi satu komponen-komponen yang ada dalam sampel (Miryanti dkk., 2011).

D. Kesehatan Gigi dan Mulut

Pengetahuan kesehatan gigi dan mulut merupakan hal yang sangat penting dalam menunjang perilaku seseorang dalam menjaga kebersihan dan kesehatan gigi dan mulut. Pengetahuan memiliki peranan penting bagi kesehatan seseorang. Meningkatnya pengetahuan seseorang akan memengaruhi kemampuan orang tersebut dalam menerima dan merespon informasi. Semakin baik tingkat pengetahuan seseorang, maka

kemampuan untuk memiliki sikap serta perilaku akan semakin baik. Pengetahuan yang baik akan berdampak pada perilaku yang sehat, sebaliknya, pengetahuan yang kurang merupakan salah satu faktor terjadinya masalah kesehatan gigi dan mulut (Anggow dkk., 2017).

Kesehatan gigi dan mulut merupakan bagian dari kesehatan tubuh secara keseluruhan. Kesehatan gigi dan mulut dapat menggambarkan kesehatan tubuh secara keseluruhan termasuk jika terjadi kekurangan nutrisi dan gejala penyakit lain di tubuh. Gangguan pada kesehatan gigi dan mulut dapat berdampak negatif pada kehidupan sehari-hari diantaranya menurunnya kesehatan secara umum, menurunkan tingkat kepercayaan diri, mengganggu aktivitas dan performa (Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI, 2019).

Kesehatan gigi dan mulut adalah suatu keadaan yang terjadi di rongga mulut, baik menyangkut kebersihan, kesehatan maupun adanya gangguan dan kelainan yang terjadi di rongga mulut. Kebersihan gigi dan mulut merupakan tindakan untuk membersihkan dan menyegarkan gigi dan mulut. Tindakan pembersihan gigi dan mulut dapat mencegah penularan penyakit melalui mulut, memperbaiki fungsi sistem pengunyahan, serta mencegah penyakit gigi dan mulut seperti penyakit pada gigi dan gusi. Perawatan untuk menjaga kesehatan gigi dan mulut perlu dilakukan. Apabila tidak dirawat dengan baik, tidak menutup kemungkinan akan terjadi karies dan penyakit periodontal. (Anindita dkk., 2018).

E. Antimikroba

Antimikroba merupakan senyawa biologis atau kimia yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri atau kapang (bakteriostatik/ fungistatik) serta membunuh bakteri atau kapang (bakterisidal/ fungisidal). Bakteriostatik dan bakterisid merupakan dua konsep yang digunakan untuk menggambarkan efek atau mekanisme kerja zat sebagai antimikroba. Zat bakteriostatik adalah zat yang menghambat pertumbuhan bakteri tanpa membunuhnya secara langsung, dalam kehadiran zat bakteriostatik akan mengakibatkan bakteri tetap hidup tetapi tidak dapat berkembang biak dengan cepat (Mawaddah, 2008).

Zat bakteriostatik bekerja dengan menghambat sintesis protein, reproduksi DNA, atau fungsi membran sel bakteri, contoh umum zat bakteriostatik adalah antibiotik seperti tetrasiklin dan kloramfenikol. Zat bakterisid adalah zat yang membunuh bakteri secara langsung. Zat bakterisid biasanya memiliki mekanisme kerja yang menghancurkan sel bakteri atau mengganggu fungsi vital mereka. Ini menyebabkan kematian bakteri dan tidak memungkinkan mereka untuk bertahan hidup atau berkembang biak. Contoh zat bakterisid termasuk antibiotik seperti penisilin, kuinolon, dan aminoglikosida (Mawaddah, 2008).

Zat aktif yang terkandung dalam berbagai jenis ekstrak tumbuhan diketahui dapat menghambat mikroba patogen (Mawaddah, 2008). Antimikroba juga dapat didefinisikan sebagai zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri, zat tersebut memiliki khasiat atau kemampuan untuk

mematikan/ menghambat pertumbuhan kuman sedangkan toksisitas terhadap manusia relatif kecil. Agen yang dapat membunuh mikroorganisme disebut agen sidal (*cidal agent*) yang meliputi bakterisidal, fungisidal dan virisidal, sedangkan agen yang hanya mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme disebut agen statis (*static agent*) yang meliputi bakteristatik, fungistatik dan viristatik (Mawaddah, 2008).

Suatu zat dapat dikategorikan sebagai agen antimikroba apabila memiliki sifat menghambat atau membunuh mikroba patogen tanpa merusak inang, bersifat bakterisida dan bukan bakteristatik, tidak menyebabkan resistensi pada mikroba, berspektrum luas, tidak menimbulkan efek samping bila digunakan dalam jangka waktu lama, tetap aktif baik dalam plasma maupun cairan tubuh, dapat larut dalam air dan stabil (Waluyo, 2004). Agen antimikroba dapat berupa disinfektan, antiseptik maupun antibiotik (Mawaddah, 2008).

Senyawa yang termasuk kedalam antimikroba diantaranya senyawa antibakteri dan antijamur. Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan (Utomo dkk., 2018), sedangkan antijamur adalah senyawa yang digunakan untuk pengobatan penyakit yang disebabkan oleh jamur. Selain itu, beberapa senyawa antimikroba yang telah diketahui berasal dari senyawa metabolit sekunder, seperti saponin, tannin, flavonoid, xantol, terpenoid, alkaloid dan sebagainya (Suerni dkk., 2013). Selain itu, Bahan alami juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan antimikroba. Salah satu bahan alami yang

mengandung senyawa anti mikroba adalah kitosan. Kitosan memiliki sifat antimikroba karena dapat menghambat bakteri patogen dan mikroorganisme pembusuk, termasuk jamur, bakteri gram-positif, dan bakteri gram negatif (Rochima, 2014).

Beberapa mikroorganisme yang bersifat patogen dan dapat dihambat pertumbuhannya oleh senyawa antimikroba, antara lain:

1. *Candida albicans*

Genus *Candida* terdiri dari lebih dari 200 spesies dan merupakan spesies ragi yang sangat beragam yang ikatannya sama dengan tidak adanya siklus seksual. Tidak semua genus *Candida* dapat menyebabkan infeksi pada manusia, hanya beberapa spesies yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia. Spesies *Candida* yang dapat menyebabkan infeksi pada manusia yaitu: *Candida albicans*, *Candida (Torulopsis) glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida kefyr*, *Candida guilliermondii*, *Candida lusitanae*, *Candida stellatoidea*, dan *Candida dubliniensis* (Dismukes dkk., 2003).

Spesies dari genus *Candida* yang paling dominan ditemukan pada rongga mulut adalah *C. albicans*. Spesies ini dapat mencapai 50% pada kondisi abnormal, namun dalam kondisi normal jamur ini hanya ditemukan berkisar 200 sel/ml saliva. *C. albicans* dapat mengeluarkan proteinase yang mampu menurunkan matriks ekstraseluler utama dan komponen membran basal yang menyebabkan peradangan destruktif dari jaringan periodontal yang mendasarinya (Lomantoro dkk., 2009).

Menurut Maharani (2012), klasifikasi *C. albicans* yaitu sebagai berikut:

Kingdom	: Fungi
Phylum	: Ascomycota
Subphylum	: Saccharomycotina
Kelas	: Saccharomycetes
Ordo	: Saccharomycetales
Famili	: Saccharomycetaceae
Genus	: <i>Candida</i>
Spesies	: <i>Candida albicans</i>

C. albicans merupakan jamur yang dapat tumbuh pada variasi pH yang luas, tetapi pertumbuhannya akan lebih baik pada pH antara 4,5 - 6,5. Aktivitas seluler dan molekuler dari faktor virulensi *C. albicans* dapat dihambat dengan berbagai anti jamur, namun efek medikal dari terapi tersebut cenderung menimbulkan infeksi sekunder akibat terganggunya sistem metabolisme dan aktivitas biologi flora normal rongga mulut satu dengan lainnya. Kendati faktor predisposisi menjadi penentu pemicu berkembangnya jamur ini, namun faktor pencetus sebagai penyebab utama perlu diperhatikan, salah satunya keseimbangan pH saliva (asam dan basa) (Wyk, 2009).

Genus *Candida* memiliki faktor virulensi yang memfasilitasi kolonisasi dan proliferasi bakteri pada mukosa mulut termasuk dalam poket periodontal *C. albicans* lebih banyak ditemukan pada sel epitel mukosa dari pasien periodontitis kronis dibandingkan dengan subjek sehat (Subakir &

Sofia, 2006). Selain itu, ditemukan pula adanya hubungan peningkatan kolonisasi ragi terutama jenis *C. albicans* pada pasien periodontitis dengan poket yang dalam. spesies *C. albicans* dapat bergabung dengan bakteri biofilm pada gigi dan menempel pada sel epitel. Interaksi ini, terkait dengan kemampuan biofilm ini dalam kerusakan jaringan ikat gingiva yang berkontribusi pada perkembangan penyakit periodontal (Tyasrini dkk., 2006). *C. albicans* dapat membentuk komunitasnya dengan membentuk ikatan koloni yang disebut biofilm. Biofilm dapat berfungsi sebagai pelindung sehingga mikroba yang membentuk biofilm mempunyai resistensi terhadap antimikroba. (Kusumaningtyas, 2009).

2. *Porphyromonas gingivalis*

Porphyromonas gingivalis merupakan bakteri Gram-negatif anaerob yang berkoloni di dalam rongga mulut manusia. Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit periodontal kronis dan biasanya berada pada lapisan biofilm gigi atau plak gigi. Bakteri *P. gingivalis* kadang bisa ditemukan pada gingiva orang sehat (Tribble dkk., 2013; Umemoto dkk., 2008). Kolonisasi *P. gingivalis* dapat terjadi karena adanya faktor virulensi dari *P. gingivalis* diantaranya fimbria, kapsul, lipopolisakarida, protease dan membran protein luar (How dkk., 2016). *P. gingivalis* juga dikenal karena kemampuannya untuk menghasilkan faktor virulensi seperti lipopolisakarida (LPS) dan enzim protease yang dapat merusak jaringan gusi dan tulang pendukung gigi. Ini dapat menyebabkan peradangan, pendarahan gusi,

pembentukan kantong gusi, dan kerusakan pada jaringan yang menyebabkan kehilangan gigi jika tidak diobati.

Menurut Grenier dan Mayrand (2011), taksonomi *P. gingivalis* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Bacteroidetes
Class	: Bacteroides
Ordo	: Bacteroisales
Family	: Porphyromonadaceae
Genus	: Porphyromonas
Spesies	: <i>Porphyromonas gingivalis</i>

Karakter *P. gingivalis* adalah memiliki bercak hitam, *pleomorphic* terutama berbentuk batang pendek, non-motil, Gram-negatif, non-fermentasi, tidak membentuk spora, obligat anaerob, *asaccharolytic*, dapat tumbuh optimum pada suhu 36,8-39°C dengan pH antara 7.5-8.0 (Iriano, 2008). Habitat utama *P. gingivalis* adalah pada daerah subgingiva terutama pada daerah subgingiva penderita periodontitis. Selain itu juga dapat ditemukan di daerah lidah, gingiva, membran mukosa bukal dan tonsil (Ludkk., 2004). Pada dinding sel *P. gingivalis* terdapat adanya membran luar, dinding peptidoglikan, dan ruang periplasmik diantara dinding sel dan membran. Struktur membran luar ini mengandung lipopolisakarida yaitu suatu struktur kompleks yang terdiri dari lipida, rantai pendek gula dan rantai panjang karbohidrat yang disebut sebagai antigen O. Membran luar

bakteri juga terdapat saluran porin yang memungkinkan penetrasi senyawa berukuran molekul kecil dan hidrofilik seperti gula, asam amino dan ion-ion tertentu (Geidam dkk., 2007).

3. ***Aggregatibacter actinomycetemcomitans***

Aggregatibacter actinomycetemcomitans adalah bakteri Gram-negatif berbentuk kokobasil, non-motil dan bersifat anaerob fakultatif (Afrina dkk., 2016). Bakteri ini berperan penting sebagai faktor etiologi periodontitis agresif. Bakteri ini juga seringkali dihubungkan dengan beberapa penyakit infeksius ekstraoral, seperti endokarditis dan abses otak (Andayani dkk., 2012).

Menurut Sriraman dkk. (2014), taksonomi *A. actinomycetemcomitans* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Pasteurellales
Family	: Pasteurellaceae
Genus	: <i>Aggregatibacter</i>
Spesies	: <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>

A. actinomycetemcomitans bersifat patogen opportunistik dan merupakan bagian flora normal yang berkolonisasi di mukosa rongga mulut, gigi dan orofaring. Bakteri ini bisa tumbuh pada agar darah dan coklat yang

kemudian membentuk koloni setelah inkubasi selama 48-72 jam. Bakteri tersebut tumbuh pada temperatur 37°C, tetapi juga bisa tumbuh pada temperatur 20°- 42°C (Sriraman dkk., 2014).

A. actinomycetemcomitans memiliki beberapa faktor virulensi seperti leukotoksin, *cytolethal distending toxin* (CDT), *chemotactic inhibitor factor*, lipopolisakarida dan kolagenase yang berperan pada dalam merusak jaringan dan resorpsi tulang pada periodontitis agresif (Afrina dkk., 2016). Bakteri *A. actinomycetemcomitans* menghasilkan Leukotoksin yang berperan dalam menurunkan respon imun dalam gingiva serta mendegradasi perlekatan epitel pada jaringan periodontal (Newman dkk., 2012).

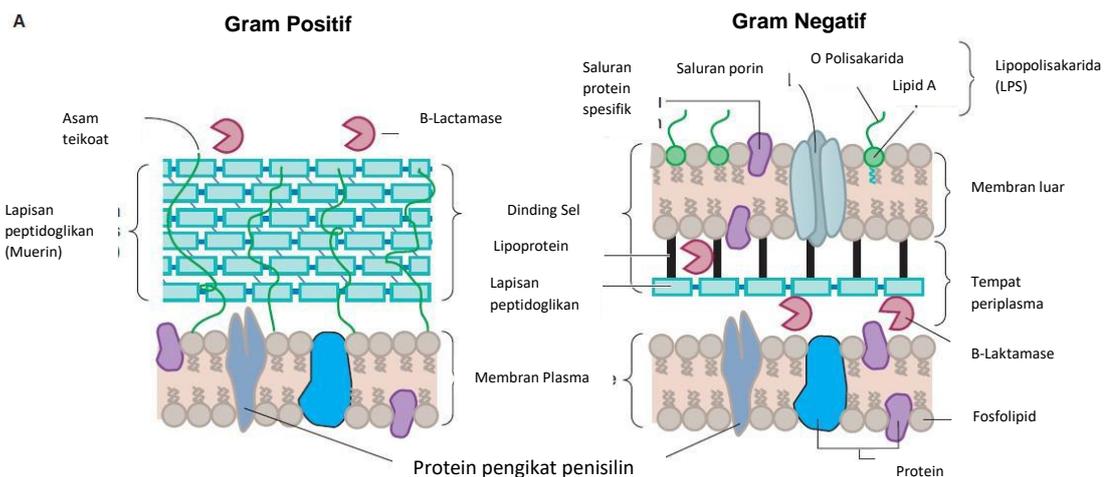
4. Mekanisme Kerja Antimikroba

Senyawa antimikroba bersifat bakterostatik/fungistatik, yaitu dapat memberikan efek dengan cara menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh. Senyawa bakterostatik seringkali menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom. Selain itu, senyawa antimikroba juga dapat bersifat bakterisidal/fungisidal, yaitu memberikan efek dengan cara membunuh sel tetapi tidak terjadi lisis sel atau pecah sel. Sifat senyawa antimikroba yang terakhir adalah bakteriolitik/fungilitik, yaitu sifat antimikroba yang menyebabkan sel menjadi lisis atau pecah sel sehingga jumlah sel berkurang atau terjadi kekeruhan setelah penambahan antimikroba. Sifat

dari senyawa antimikroba akan menentukan mekanisme penghambatan dari senyawa antimikroba tersebut (Madigan dkk., 2000).

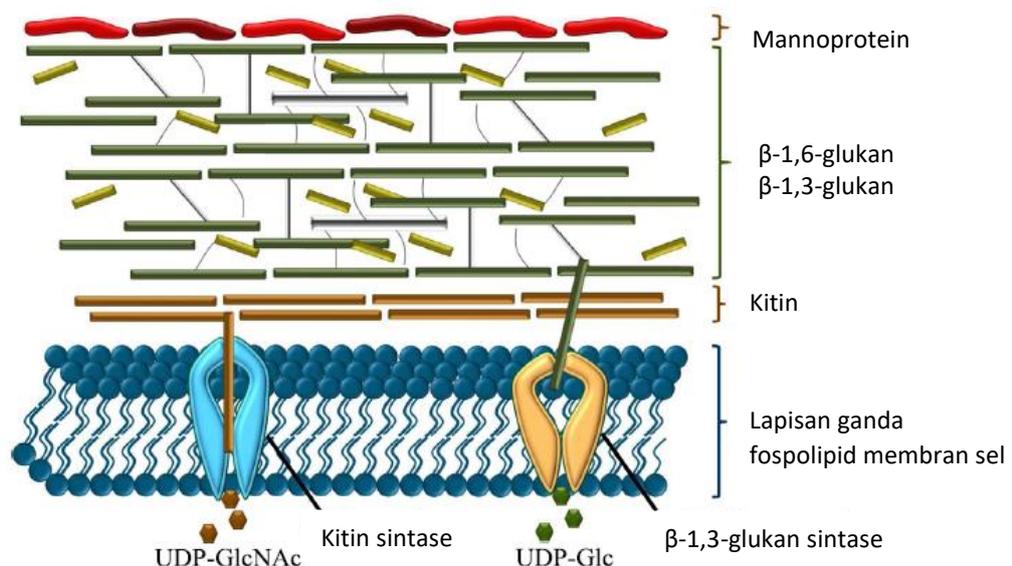
Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba oleh senyawa antimikroba dapat berupa merusak dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein (Moulia, 2018).

Pada bakteri, senyawa antibakteri bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel, merusak keutuhan dinding sel, menghambat sintesis protein sel, menghambat sintesis asam nukleat, dan merusak asam nukleat sel bakteri (Dwidjoseputro, 2005). Struktur dari dinding sel bakteri, baik Gram-positif maupun Gram-negatif dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur dinding sel bakteri (Brunton dkk., 2006)

Dinding sel bakteri tersusun dari peptidoglikan yang merupakan komponen penting dalam menjaga stabilitas dinding sel bakteri. Pertumbuhan bakteri dapat dihambat dengan mengganggu proses biosintesis peptidoglikan oleh senyawa antibakteri. Penghambatan biosintesis peptidoglikan akan sangat berdampak terhadap stabilitas dinding sel bakteri. Dinding sel yang tidak stabil akan menyebabkan kematian pada bakteri (Brunton dkk., 2006). Sedangkan, dinding sel jamur sebagian besar tersusun dari kitin dan glukukan, dan sebagian kecil terdiri dari selulosa dan kitosan (Sutanto dkk., 2008). Pertumbuhan jamur dapat dihambat dengan menghambat sintesis glukukan pada dinding sel sehingga proses metabolisme jamur akan terganggu dan mengakibatkan kematian pada jamur (Gubbins & Anaissie, 2009). Struktur dinding sel jamur dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Struktur dinding sel jamur (Fesel & Zuccaro, 2016)

F. Biofilm dan Antibiofilm

Biofilm adalah kumpulan mikroorganisme yang terdiri dari sel-sel mikroba yang terhubung satu sama lain dalam matriks yang diproduksi sendiri yang terbentuk dari komponen polimer ekstraseluler pada atau dalam organisme inang. Biofilm dapat tumbuh di hampir semua permukaan atau di lingkungan apa pun di mana bakteri berada. Keadaan film dibuat oleh kombinasi bakteri permukaan dengan zat organik atau anorganik yang ada. Substrat, baik biologis maupun anorganik, naik ke atas saat berdifusi ke atas atau dibawa oleh arus cair. Biofilm memiliki kemampuan yang lebih baik untuk mengirimkan nutrisi daripada cairan (Verawati, 2022).

Biofilm merupakan salah satu produk hasil interaksi antara sel-sel dari masing-masing organisme sehingga dapat membentuk suatu lapisan akibat dari penempelan bakteri pada permukaan yang cocok (Winarsih dkk., 2019). Mikroba membentuk biofilm dengan memproduksi matriks ekstraseluler yang disebut substansi polimer ekstraseluler (EPS/ *Extracellular Polymeric Substance*) (Prakash dkk., 2003). EPS terdiri dari biomolekul, eksopolisakarida, ekstraseluler DNA dan polipeptida yang berkontribusi terhadap bentuk dan rangka struktural biofilm (Flemming & Wingender, 2010). Matriks polimer ekstraseluler ini mampu melindungi bakteri biofilm dari antibiotik, desinfektan dan aktivitas fagositosis makrofag hospesnya. Antibiotik tidak mampu menembus lapisan biofilm karena matriks ekstraseluler biofilm dapat menghambat difusi dan mengikat

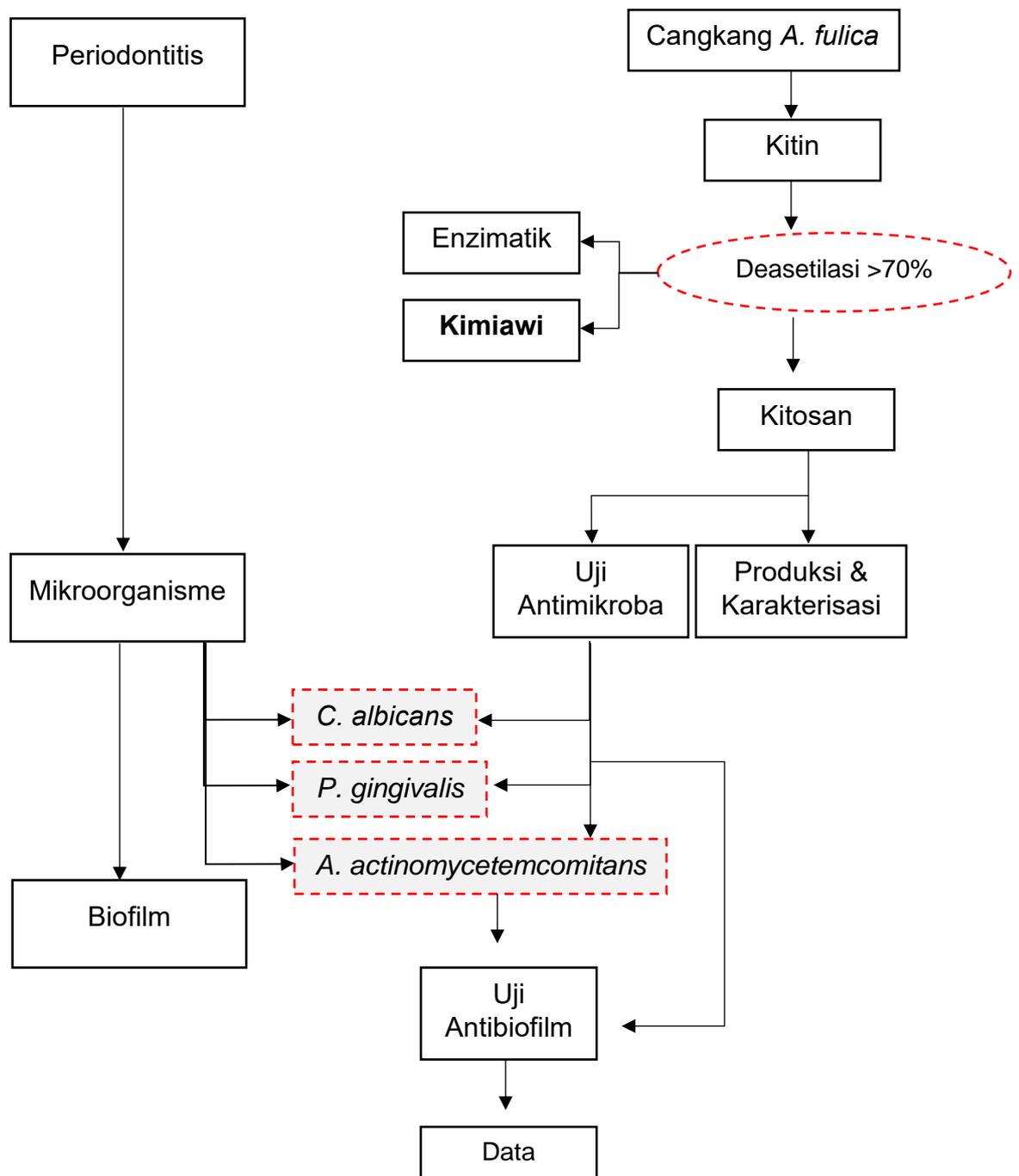
antibiotik sehingga hanya bakteri planktonik saja yang terbunuh sedangkan bakteri yang berada di dalam lapisan biofilm akan tetap hidup (Mah & O'Toole, 2001; Lewis, 2001). Selain itu, bakteri biofilm juga mampu bertahan terhadap lingkungan ekstrim yang membahayakan seperti fluktuasi pH dan suhu (Melchior dkk., 2006; Oliveira dkk., 2006).

Biofilm merupakan faktor virulensi mayor yang berkontribusi pada infeksi luka kronis. Biofilm yang terbentuk dari mikroba dapat menyebabkan terjadinya masalah yang serius pada kesehatan gigi dan mulut, sehingga pembentukan biofilm ini harus dihambat. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk menghambat pembentukan biofilm ini adalah dengan menggunakan zat, baik yang terdapat di alam maupun menggunakan antibiotik.

Suatu zat dapat digolongkan sebagai antibiofilm karena dapat menghasilkan aktivitas antibiofilm bakteri dengan cara menekan ekspresi gen yang menyandi protein dan enzim yang digunakan untuk membentuk biofilm dan dibaca menggunakan *ELISA Reader* (Ta & Arnason, 2016). *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) adalah suatu teknik biokimia yang digunakan dalam bidang imunologi untuk mendeteksi kehadiran antibodi atau antigen dalam suatu sampel. Pembacaan pada ELISA reader ada beberapa hal yang perlu diperhatikan salah satunya adalah waktu pembacaan absorbansi. (Santoso dkk., 2021).

G. Kerangka Konseptual

Periodontitis merupakan salah satu masalah kesehatan gigi dan mulut yang dialami oleh hampir seluruh masyarakat dengan prevalensi 74,1% pada semua kelompok umur (Balitbangkes, 2018).



Gambar 7. Skema kerangka

Penyakit ini disebabkan oleh interaksi mikroorganisme, produk bakteri, dan berkurangnya respon imun sehingga mengakibatkan kerusakan jaringan pendukung gigi. Beberapa mikroorganisme yang berperan dalam penyakit pada rongga mulut, diantaranya *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan *Candida albicans* dengan membentuk biofilm pada permukaan biomaterial. Biofilm merupakan perangkap nutrisi untuk pertumbuhan populasi mikroorganisme yang memiliki dampak buruk bagi kesehatan gigi karena dapat memicu berbagai masalah kesehatan gigi dan mulut. Pembentukan biofilm dapat dihambat dengan pemberian kitosan. kitosan dapat berinteraksi dengan membran bermuatan negatif dan mengubah morfologi permukaan bakteri, yang dapat meningkatkan permeabilitas membran, menyebabkan kebocoran zat intraseluler (mengurangi fungsi membran), dan mencegah masuknya nutrisi pada mikroorganisme. Mekanisme ini menjadi dasar senyawa kitosan sebagai antibiofilm (Sasikumar dkk., 2017).

Kitosan adalah hasil deasetilasi kitin yang merupakan suatu polimer yang bersifat polikationik. Kitosan dapat diproduksi melalui proses reaksi kimia maupun reaksi enzimatik. Proses pembentukan kitosan secara kimiawi dilakukan dengan penambahan basa kuat NaOH. Kitosan dapat diproduksi dari cangkang *A. fulica* yang merupakan limbah yang dapat merusak lingkungan jika tidak diolah dengan benar. Kitosan telah banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang, diantaranya sebagai antimikroba dan antibiofilm.

H. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Kitosan dapat diproduksi dari cangkang *A. fulica* dengan derajat deasetilasi >70%.
2. Kitosan yang diproduksi dari cangkang *A. fulica* dapat diketahui sifat karakteristik yang sesuai dengan kitosan standar.
3. Kitosan dari cangkang *A. fulica* efektif sebagai antimikroba dan antibiofilm.