

Pengaruh Derajat Deasetilisasi Kitosan pada Coating Nata de coco-Kitosan sebagai Bahan Antibakteri

Kurnia Widhi Astuti^{1*}, Vina Fauza Rizqiyah², Tokok Adiarto³

¹⁾ Program Studi Analisis Kimia, Politeknik AKA Bogor, Jl. Pangeran Sogiri No. 283, Bogor, 16154

^{2,3)} Program Studi Kimia, Universitas Airlangga, Jalan Dr. Ir. H. Soekarno, Surabaya 60115

Email: kurniawidhi@kemenperin.go.id

(Received : 31 Oktober 2022; Accepted: 30 Desember 2022; Published: 31 Desember 2022)

Abstrak

Kitosan banyak digunakan sebagai bahan pelapisi/ *coating* untuk buah-buahan, sebagai edible film, bahkan dapat digunakan sebagai *coating* pada batu-batuan. Selulosa bakteri merupakan satu produk yang telah banyak diaplikasikan pada bidang medis, pangan, dan bahkan dapat menjadi bahan baku alternatif untuk mengganti beberapa jenis produk berbahan baku selulosa tumbuhan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh derajat deasetilisasi pada coating nata de coco-kitosan terhadap kemampuan kitosan sebagai antibakteri. Kitosan dilarutkan dalam asam asetat 2% kemudian dilapisi (*coating*) pada lembaran kering nata de coco dan didiamkan pada suhu kamar hingga kering. Derajat deasetilasi dihitung menggunakan metode *baseline* dan diperoleh nilai derajat deasetilasi kitin dan kitosan masing-masing sebesar 81,52%; 77,87%; dan 77% sedangkan derajat deasetilasi masing-masing kitin adalah 58,34%; 55,76%; dan 62,10%. Derajat deasetilasi 81,52% memiliki kemampuan antibakteri paling baik dibandingkan derajat deasetilasi 77,87% dan 77%. Pengujian antibakteri dengan *E.coli* dan *S. aureus* menggunakan metode *difusi agar* menunjukkan uji positif sebagai antibakteri dengan adanya zona bening disekitar sampel nata de coco-kitosan. Dari hasil pengujian antibakteri diperoleh diameter zona bening sebesar 1.17 cm pada *E.coli* dan 1,27 cm pada *S.aureus*.

Kata kunci : kitosan; selulosa bakteri; nata de coco; deasetilisasi; antibakteri;

Abstract

Chitosan used as a coating material for fruits, as an edible film, and can even be used as a coating on stones. The purpose of this study was to determine the effect of the degree of deacetylation on the nata de coco-chitosan coating with the ability of chitosan as an antibacterial. Bacterial cellulose is a product that has been widely applied in the medical, food, and even alternative raw materials for replacing several types of products made from plant cellulose. Chitosan was dissolved in 2% acetic acid then coated on a dry sheet of nata de coco and allowed at room temperature. The degree of deacetylation was calculated using the baseline method and the values of the degree of deacetylation of chitin and chitosan each of was 81.52%; 77.87%; and 77% while the degree deacetylation of chittin each of was 58.34%; 55.76%; and 62.10%. The degree of deacetylation of 81.52% had the best antibacterial ability compared to the degree of deacetylation of 77.87% and 77%. Antibacterial testing with *E.coli* and *S. aureus* using the agar diffusion method, showed a positive test as antibacterial in the presence of a clear zone around the nata de coco-chitosan sample. The results of the antibacterial test, the diameter of the clear zone was 1.17 cm for *E.coli* and 1.27 cm for *S.aureus*.

Keywords: *chitosan; bacterial cellulose; nata de coco; deacetylation; antibacterial*

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki sumber daya perikanan yang kaya dan potensial, baik dari perikanan laut, perairan umum maupun perikanan budidaya. Kepmen KP Nomor 19/2022 isinya tentang Estimasi Potensi Sumber Daya Ikan, Jumlah Tangkapan Ikan yang Diperbolehkan (JTB), dan Tingkat Pemanfaatan Sumber Daya Ikan di Wilayah Pengelolaan Perikanan Negara Republik. Sesuai Kepmen KP tersebut, total estimasi potensi sumber daya ikan di 11 WPPNRI sebanyak 12,01 juta ton per tahun dengan JTB 8,6 juta

ton per tahun. Hal ini menunjukkan tingginya minat para pelaku usaha perikanan dalam mengembangkan usahanya, terutama di sub sektor perikanan budaya (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2022).

Peningkatan produksi udang secara tidak langsung akan meningkatkan limbah udang, yaitu kepala dan kulit udang. Kulit udang merupakan limbah dalam industri pengolahan udang yang porsinya mencapai 30-70% (Yati, 2016). Limbah ini belum dimanfaatkan secara baik dan berdaya guna, bahkan

merupakan limbah yang turut mencemari lingkungan. Kulit udang mengandung kitin yang merupakan polimer terbesar kedua di alam setelah selulosa (Setiati dkk, 2020). Kadar kitin dalam berat udang berkisar antara 60-70% dan bila diproses menjadi kitosan menghasilkan 15-20%). Beberapa negara seperti Amerika dan Jepang, menggunakan limbah kulit udang untuk industri farmasi, biokimia, biomedikal, pangan, pertanian, dan kesehatan. Limbah kepala udang ini mencapai 35%-50% dari total berat udang. Oleh karena itu, salah satu alternatif upaya pemanfaatan limbah tersebut agar memiliki nilai dan daya guna tinggi yaitu dengan cara mengolah kulit udang menjadi kitin dan kitosan (Rahmatul, 2018).

Kitosan merupakan senyawa hasil deasetilisasi kitin terdiri dari unit N-asetil glukosamin dan N-glukosamin. Adanya gugus reaktif amino pada atom C-2 pada kitosan bermanfaat dalam aplikasinya secara luas. Pada dasarnya, salah satu alasan yang menyebabkan kitosan memiliki kemampuan antibakteri yaitu adanya gugus amina pada kitosan yang bermuatan positif dalam larutan asam asetat membentuk (NH₃⁺) yang mampu berinteraksi dengan membrane sel bakteri bermuatan negatif yang menyebabkan rusaknya protein dan senyawa-senyawa lain dalam sel bakteri (Mardy dkk, 2016).

Kitin dan Kitosan dapat diaplikasikan dalam bidang industri maupun kesehatan. Beberapa aplikasinya antara lain di industri tekstil, fotografi, kedokteran, fungisida, kosmetika, pengolahan pangan dan penanganan limbah. Kitosan juga merupakan bahan baku pembuatan membran, diharapkan dengan berhasilnya melakukan sintesis produk kitosan akan menunjang kebutuhan terhadap membran, yang banyak digunakan untuk berbagai kebutuhan filtrasi. Selain itu kitosan dapat berfungsi sebagai koagulan yang digunakan pada proses (Safitri, 2016).

Derajat deasetilisasi kitosan mempunyai pengaruh terhadap kemampuan antibakteri, karena kitosan memiliki derajat deasetilisasi tinggi, maka gugus amina lebih banyak sehingga lebih reaktif. Kitosan banyak digunakan sebagai bahan pelapisan/coating untuk buah-buahan, sebagai edible film, bahkan dapat digunakan sebagai coating pada batu-batuan. Uji antibakteri kitosan dilakukan pada lembaran nata de coco diharapkan mampu mengurangi bakteri yang menyebabkan bau pada nata de coco. Selulosa bakteri memiliki beberapa keunggulan antara lain kemurnian tinggi, derajat kristalinitas tinggi, kerapatan antara 300-900 kg/m³, kekuatan tarik tinggi, elastis dan biodegradable (Sivakarmi and Thandapani, 2013).

Selulosa bakteri merupakan polimer alam yang bersifat sama seperti hydrogel yang diperoleh dari polimer sintetik yaitu adanya kandungan air tinggi (98-99%), daya serap cairan baik, tidak alergenik, dapat disterilisasi tanpa mempengaruhi karakteristik dari bahan tersebut. Selain bermanfaat dalam bidang makanan, dalam perkembangannya nata de coco dapat

dimanfaatkan sebagai membrane, pengganti kertas. Dalam bidang medis selulosa bakteri dapat dimanfaatkan sebagai pengganti kulit untuk luka bakar yang serius (Fitriani Dian dkk, 2019).

Hasil penelitian Farah dkk (2013) menunjukkan bahwa pembentukan selulosa bakteri-kitosan melalui reaksi menggunakan asam sitrat meningkatkan kapasitas absorpsi dan sifat antimikrobanya. Komposit tersebut memberikan nilai kapasitas absorpsi dalam air DM sebesar 21.5 g/g dan kapasitas absorpsi dalam larutan salin (NaCl 0,9%) sebesar 8.2 g/g. Sedangkan hasil penelitian Magani dkk (2020) diperoleh penghambatan pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* tertinggi pada konsentrasi 0,5%, dengan diameter zona hambat hari pertama sampai hari ketiga 12,31 mm, 9,98 mm, dan 20,46 mm pada *S. aureus* dan 15,88 mm, 18,71 mm, dan 20,43 mm pada *E. coli*. Penelitian Fitriani (2018) diperoleh hasil karakterisasi selulosa bakteri, berat kering selulosa yang dihasilkan menggunakan media sari buah pedada dengan penambahan urea, yeast, ekstrak kecambah kacang hijau berturut turut 0,37 g/L, 0,52 g/L, dan 2,23 g/L, sedangkan selulosa yang dihasilkan menggunakan media sari buah kundur dengan penambahan urea, yeast, ekstrak kecambah kacang hijau berturut turut 1,3 g/L, 0,32 g/L, dan 5,43 g/L.

Pelapisan kitosan pada nata de coco (coating kitosan-nata de coco) ini menggunakan teknik spray. Kitosan dilapiskan pada nata de coco dengan variasi konsentrasi. Untuk mengetahui keefektifan kitosan sebagai antibakteri yaitu dengan cara melakukan uji efektifitas dengan metode difusi agar, dengan cara mengambil larutan inoculum ditambahkan agar lunak yang sesuai. Kertas cakram dipotong dan ditempatkan pada bakteri. Cetakan itu diperiksa secara visual untuk zona inhibisi sekitar lembaran kering nata de coco.

Berdasarkan fakta di atas, tujuan penelitian ini adalah menentukan formulasi terbaik terhadap aktivitas antibakteri coating kitosan-nata de coco berdasarkan pengaruh derajat deasetilisasi sehingga memiliki aktivitas antibakteri paling baik. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan acuan dan referensi dalam pengembangan produk bahan antibakteri penutup luka dengan material coating kitosan-nata de coco yang aman serta juga memperhatikan segi aspek biaya.

BAHAN DAN METODE

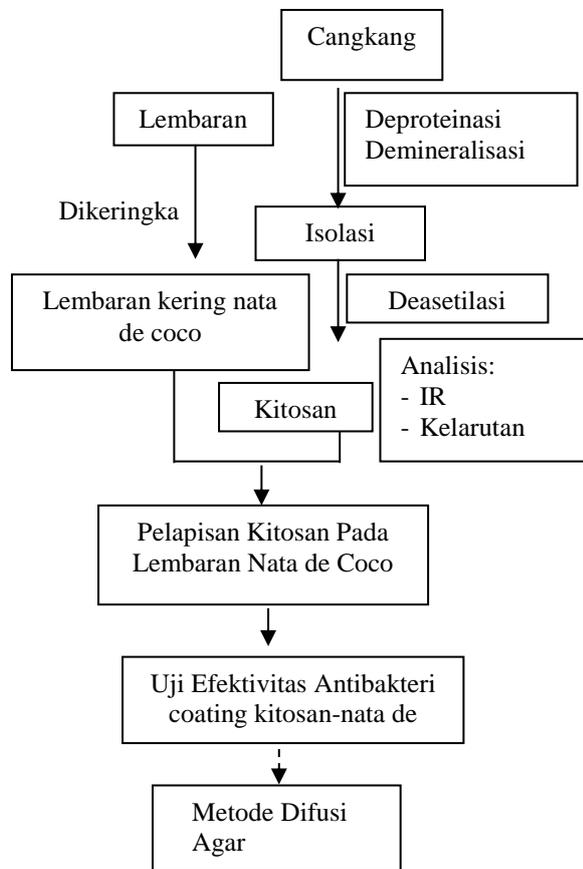
Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah gelas beker, gelas ukur, labu ukur, pipet, pipet volume, pengaduk, stirrer, Erlenmeyer, pemanas, alat Spektroskopi IR, neraca digital Ohaus.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah cangkang udang, NaOH, HCl, akuades, asam asetat, lembaran nata de coco, media agar, bakteri *Staphylococcus aureus*, bakteri *Escherichia coli*.

Metode

Pada preparasi kitosan menggunakan metode standar yaitu: 1). Tahap deprotenasi 2). Tahap demineralisasi 3). Tahap deasetilisasi. Adapun diagram alir penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram Alir Penelitian

Preparasi Kitosan

Tahap deproteinasasi

Kulit (cangkang) udang dicuci sampai bersih dari pengotor. Setelah itu dikeringkan di bawah sinar matahari kemudian ditumbuk dan dihancurkan. Serbuk cangkang udang diayak dan dimasukkan dalam gelas beker dan ditambah larutan NaOH 3,5 % dengan perbandingan antara serbuk kulit udang windu dengan larutan NaOH 1:10 (gram serbuk/ ml NaOH). Proses ini dilakukan selama 2 jam pada suhu 65°C disertai pengadukan, setelah itu larutan disaring dengan kertas saring sehingga didapatkan residunya dan dicuci dengan aquades hingga pH air netral, kemudian dioven sampai kering. Hasil yang diperoleh adalah Crude kitin.

Tahap demineralisasi

Crude kitin hasil deproteinasasi dimasukkan ke dalam gelas beker dan ditambahkan larutan HCl 1 N dengan perbandingan antara crude kitin dengan larutan HCl 1:15 (gram serbuk/ ml HCl). Proses ini dilakukan

dengan pengadukan selama 30 menit pada suhu kamar. Setelah itu larutan disaring dengan kertas saring sehingga didapatkan residunya dan dicuci dengan aquades sehingga pH air netral. Kemudian dikeringkan dalam oven sampai kering.

Tahap deasetilasi

Proses deasetilasi kitin dengan memanaskan kitin dalam larutan NaOH 50 % dengan perbandingan 1:10 (gram serbuk/ml NaOH) pada suhu 110°C dengan waktu pemanasan 90 menit. Padatan kemudian dipisahkan dengan cairan, selanjutnya dicuci dengan aquades hingga netral. Setelah itu padatan dikeringkan pada suhu 60°C dalam oven selama 24 jam. Kemudian dicuci dengan aquades dan disaring menggunakan kertas saring dan dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C.

Karakterisasi Kitosan

Uji kelarutan

Serbuk kitin dilarutkan pada larutan asam asetat encer. Jika ternyata tidak larut, maka serbuk tersebut adalah kitin. Dan sebaliknya, untuk kitosan uji kelarutannya dapat dilakukan dengan melarutkan ke dalam asam asetat encer. Jika serbuk tersebut larut, berarti serbuk tersebut adalah kitosan. Kitosan dapat larut karena terbentuk amina kuartener. Persentase kelarutan ditunjukkan dengan kitin atau kitosan yang tersisa dibandingkan dengan kitin atau kitosan awal.

Uji derajat deasetilasi

Sampel dicampur dengan KBr pada konsentrasi 5% berat dan sampel kitosan dibuat pellet terlebih dahulu. Spektra IR dibuat pada range frekuensi 4000-500 cm⁻¹. Untuk menghitung derajat deasetilasi digunakan persamaan matematis (Baxter et al., 1992).

$$DD = 100 - [(A_{1655} / A_{3450}) \times 115]$$

Dimana A₁₆₅₅ dan A₃₄₅₀ merupakan absorbansi pada 1655 cm⁻¹ dari pita amida-I yang menunjukkan kandungan gugus N-asetil dan 3450 cm⁻¹ dari gugus hidroksil sebagai internal standar untuk menentukan ketebalan film atau perbedaan konsentrasi kitosan dalam pellet.

Coating kitosan-nata de coco

Nata de coco dikeringkan terlebih dahulu dan kitosan dilarutkan pada asam asetat 2%. Pelapisan kitosan pada lembaran nata de coco menggunakan teknik spray. Selanjutnya dikeringkan pada suhu kamar (±30°C). Setelah diketahui kemampuan antibakteri kitosan tersebut, selanjutnya dilakukan pelapisan kitosan dengan variasi konsentrasi 1,0% ; 1,5%; 2,0%; dan 2,5% untuk mengetahui variasi konsentrasi kitosan terhadap kemampuan antibakterinya kemudian dilakukan uji antibakteri dengan metode difusi agar.

Uji antibakteri kitosan dengan metode difusi agar

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi agar dengan cara 100 µL larutan inoculum ditambahkan ke dalam 5 mL agar lunak yang sesuai. Kertas cakram dipotong sesuai nata de coco uji (diameter= 1,7 cm) dan ditempatkan pada bakteri. Cetakan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C, kemudian cetakan diperiksa secara visual untuk zona inhibisi. Potensi antibakteri ditetapkan dengan cara membandingkan diameter hambatan larutan sampel dengan diameter hambatan larutan standar, pada dosis yang sama dilakukan pada biakan mikroba yang peka dan sesuai.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Deproteinasi

Deproteinasi merupakan proses penghilangan protein-protein yang ada pada kulit udang, hasil deproteinasi ini disebut *crude* kitin atau kitin kasar. Deproteinasi ini dilakukan dengan NaOH 3,5% pada suhu 65°C selama 2 jam dengan pengadukan. Pada penelitian ini *crude* kitin masing-masing dibuat dari 100 gram, 430 gram, dan 295 gram kulit udang dan setelah melalui tahap deproteinasi dihasilkan berat masing-masing kulit udang yaitu 52,2 gram; 182 gram; dan 156 gram. Pada proses deproteinasi ini terjadi perubahan warna kulit udang dari coklat kemerahan menjadi kuning gelap atau agak kecoklatan, hal ini karena terjadi lepasnya pigmen kulit udang dan terjadi pemutusan ikatan antara protein dengan kitin.

Demineralisasi

Tahap demineralisasi merupakan proses penghilangan senyawa anorganik atau mineral yang terkandung dalam kulit udang. Mineral yang ada dalam kulit udang biasanya berupa CaCO_3 dan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Hasil demineralisasi dari *crude* kitin masing-masing yaitu 23 gram; 86,5 gram; dan 80 gram. Berkurangnya berat menunjukkan mineral yang terikat pada *crude* kitin larut dalam pereaksi dan akan hilang dengan pencucian dan pada proses ini dihasilkan *crude* kitin yang berwarna kuning muda.

Perubahan kitin menjadi kitosan

Transformasi kitin menjadi kitosan dilakukan untuk mengubah gugus asetonida menjadi gugus amina melalui reaksi adisi oleh ion OH^- , reaksi eliminasi dan serah terima proton (Fessenden & Fessenden, 1995). Proses ini dilakukan dengan NaOH pekat yaitu NaOH 50%. Larutan NaOH konsentrasi tinggi (>40%) berfungsi memutuskan ikatan antar gugus karboksil dengan atom nitrogen dari kitin yang memiliki struktur kristal tebal dan panjang (Siripan and Stephan, 2010). Tingginya konsentrasi NaOH menyebabkan gugus fungsional amino ($-\text{NH}_3^+$) yang mensubstitusi gugus asetil kitin di dalam sistem larutan semakin aktif sehingga proses deasetilasi semakin baik. Hasil yang diperoleh berupa serbuk berwarna lebih putih dari kitin. Dan dari proses deasetilasi ketiga kitin tersebut dihasilkan kitosan masing-masing 14 gram; 45 gram; dan 30 gram. Hasil isolasi kitin dan kitosan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Isolasi Kitin dan Kitosan

Kulit udang (gram)	Kitin (gram)	% Kitin	Kitosan (gram)	% Kitosan
I	100	23	14	14
II	430	86,5	45	10,46
III	295	80	30	10,17

Hasil Uji Kelarutan dalam Asam Asetat Encer

Kelarutan kitosan dalam asam asetat merupakan salah satu parameter utama dalam standar penilaian mutu kitosan. Semakin tinggi kelarutan kitosan dalam asam asetat 2% menunjukkan mutu kitosan yang dihasilkan semakin baik (Prisiska, 2012). Kelarutan diamati dengan membandingkan kejernihan larutan kitosan dengan kejernihan pelarutnya (Edward dkk, 2016).

Uji kelarutan merupakan salah satu uji sederhana untuk mengetahui kitosan benar-benar terbentuk dari proses deasetilasi. Dalam asam asetat encer, kitosan hasil deasetilasi akan larut sedangkan kitin tidak dapat larut dalam asam asetat encer. Hal ini disebabkan pada kitosan terdapat gugus fungsi amina

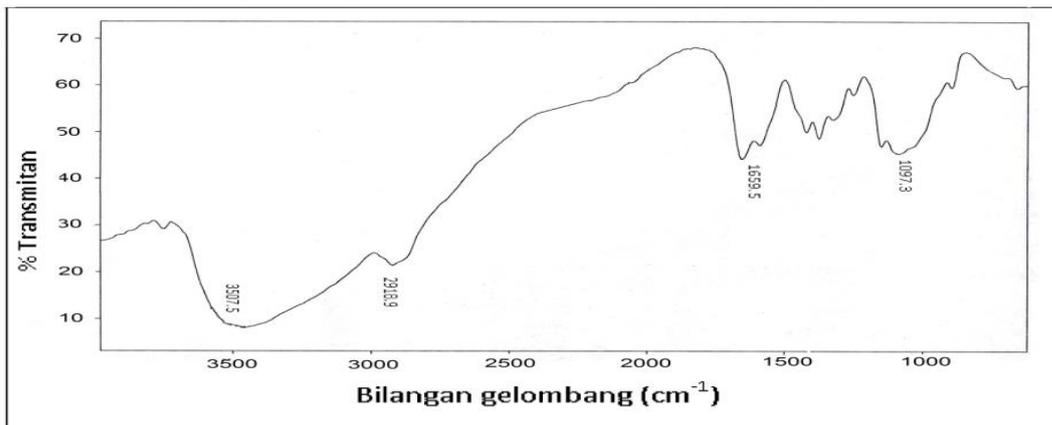
yang dapat membentuk ikatan hidrogen karena memiliki pasangan elektron bebas yang terdapat pada nitrogen N pada gugus amina. Adanya gugus karboksil dalam asam asetat akan memudahkan pelarutan kitosan karena terjadinya interaksi hidrogen antara gugus karboksil dengan gugus amina dari kitosan (Dunn *et al.* 2001). Semakin tinggi derajat deasetilasi kitosan, maka gugus asetil kitosan semakin rendah sehingga interaksi antar ion dan ikatan hidrogennya akan semakin kuat (Edward dkk, 2016).

Hasil uji spektroskopi IR

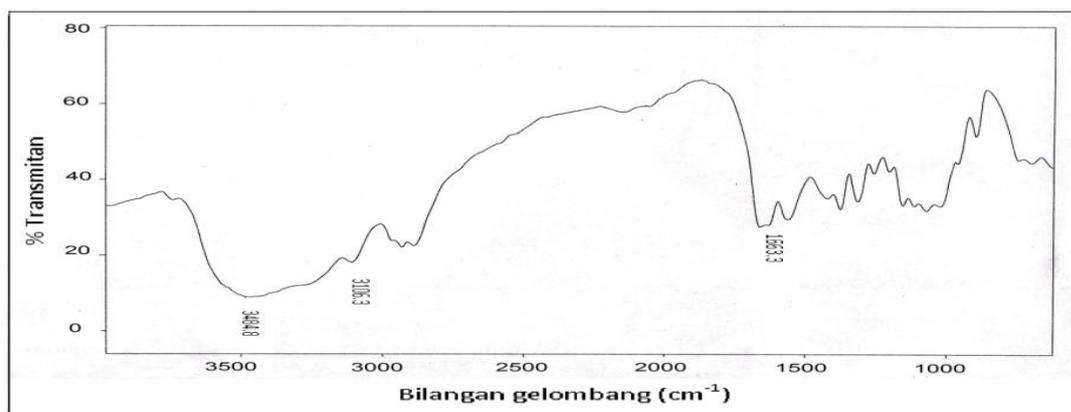
Uji spektroskopi IR dilakukan untuk menganalisa gugus fungsi dan untuk menentukan derajat deasetilasi dari kitin dan kitosan yang dilakukan

dengan spektroskopi FTIR. Kitin dan kitosan terlebih dahulu dipreparasi sebelum dianalisa, yaitu digerus bersama KBr dengan perbandingan 1:10 (w/w).

Penggunaan KBr karena sel tempat tempat cuplikan sampel harus terbuat dari bahan yang dapat tembus sinar infra merah, seperti NaCl dan KBr.



Gambar 2. Spektra IR kitin I



Gambar 3. Spektra IR kitosan I

Dari spektra IR terlihat pita tajam yang khas untuk gugus karbonil amida (C=O) pada bilangan gelombang 1690-1650 cm^{-1} yang pada gambar terlihat pada puncak 1663,3 cm^{-1} dan terdapat pita serapan untuk (N-H) pada 3500-3300 cm^{-1} , menunjukkan adanya gugus amida (asetamida). Selain itu juga terdapat puncak pita serapan gugus hidroksil (O-H) pada daerah 3650-3200 cm^{-1} dengan puncak 3484,8 cm^{-1} . Berdasarkan spektra di atas tampak telah terjadi transformasi dari kitin ke kitosan bila dilihat dari hilangnya serapan 1663,3 cm^{-1} pada daerah amida 1690-1650 cm^{-1} .

Derajat Deasetilasi (DD)

Derajat deasetilasi merupakan suatu parameter yang menentukan mutu kitosan, dimana nilai DD menunjukkan persentase gugus asetil yang dapat dihilangkan dari rendemen kitin maupun kitosan. Semakin tinggi derajat deasetilasi kitosan, maka gugus asetil kitosan rendah semakin rendah sehingga interaksi antar ion dan ikatan hydrogen akan semakin kuat (Knoor, 2004).

Derajat deasetilasi digunakan untuk mengetahui terbentuknya kitosan dari kitin. Derajat deasetilasi kitosan pada penelitian ini ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil derajat deasetilasi kitin dan kitosan

Kitin	DD (%)	Kitosan	DD (%)
I	58,34	I	81,52
II	55,76	II	77,87
III	62,1	III	77

Dari tabel di atas menunjukkan bahwa kitosan I memiliki nilai DD yang lebih besar dibandingkan dengan kitosan lain yaitu sebesar 81,52%, yang ditentukan berdasarkan metode spektrofotometer IR (2000). Hasil perhitungan Derajat deasetilasi kitosan sesuai dengan standar Protan Laboratory yang menyatakan bahwa derajat deasetilasi kitin terhadap kitosan berkisar antara 70-100% (Siraleartmukul, 2004).

dengan metode *Baseline* (Khan et al, 2002). Semakin tinggi derajat deasetilasi kitosan, maka gugus asetil kitosan semakin rendah sehingga interaksi antar ion dan ikatan hidrogennya akan semakin kuat (Knorr, 2000).

Coating kitosan-nata de coco

Pelapisan kitosan pada nata de coco dilakukan dengan melarutkan kitosan dalam asam asetat 2% yang ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 4. Coating kitosan-nata de coco

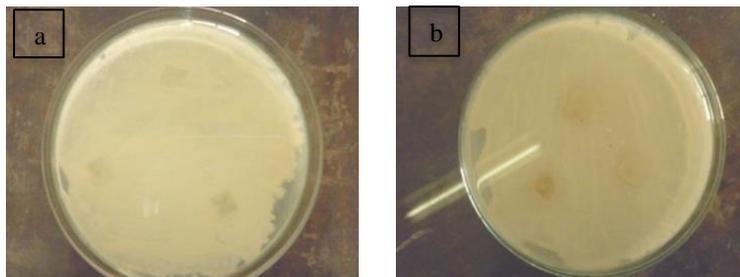
Pelapisan nata de coco dengan kitosan terjadi pada permukaan nata de coco melalui interaksi adsorpsi, yaitu keadaan dimana kitosan akan menempel pada nata de coco karena adanya gaya intermolekul dari kedua material (Prameela et al., 2010). Ikatan yang terjadi pada *coating* kitosan pada nata de coco yaitu

ikatan hidrogen, gugus (-NH₂) dari kitosan melalui dipol-dipol berinteraksi dengan gugus (-OH) pada molekul selulosa. Ikatan hidrogen cukup penting dalam ikatan permukaan (*interfacial*) untuk hemiselulosa dan selulosa yang memiliki banyak gugus hidroksil (Vick, 2000).

Pengujian Antibakteri

Uji antibakteri terhadap derajat deasetilasi kitosan dilakukan untuk mengetahui pengaruh derajat deasetilasi kitosan terhadap aktivitas antibakterinya. Sampel untuk uji ini yaitu nata de coco yang telah

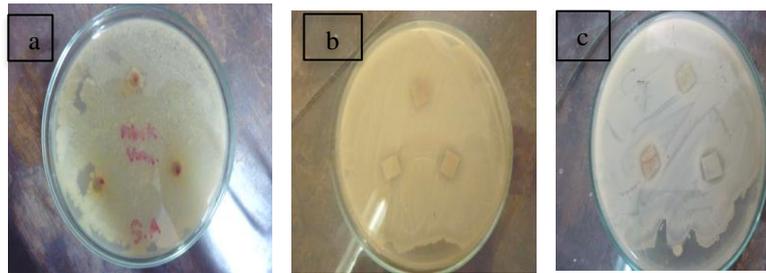
dilapisi dengan kitosan dengan derajat deasetilasi yang berbeda-beda, setelah itu dilakukan uji bakteri *E.coli* dan *S.aureus* dengan metode difusi agar. Hasil pengujian dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Uji antibakteri kitosan (a). *E.coli* (b). *S.aureus*

Hasil pengujian di atas menunjukkan adanya kontrol negatif untuk uji antibakteri pada kitosan sebagai pelapis nata de coco. Hasil pengujian antibakteri pada

kitosan masing-masing derajat deasetilasi ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Derajat deasetilasi kitosan pada *S.aureus*

Pada Gambar 4 menunjukkan hasil uji positif *S.aureus* ketiga kitosan tersebut menunjukkan uji positif sebagai antibakteri dengan adanya zona bening disekitar

sampel nata de coco. Sedangkan hasil uji positif bakteri *E.coli* dapat ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Derajat deasetilasi kitosan pada *E.coli*

Pada Gambar 5. menunjukkan bahwa kitosan II dan III pada uji antibakteri terhadap *E.coli* tidak terlihat adanya penghambatan terhadap *E.coli*, sedangkan untuk kitosan I menunjukkan uji positif terhadap

E.coli. Pengujian antibakteri menunjukkan uji positif sebagai antibakteri dengan adanya zona bening disekitar sampel nata de coco yang dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Diameter zona bening bakteri *E.coli* dan *S.aureus*

Derajat Deasetilasi Kitosan (%)	Diameter zona bening <i>E.coli</i>			Diameter rata-rata (cm)	Diameter zona bening <i>S.aureus</i>			Diameter rata-rata (cm)
	1	2	3		1	2	3	
81,52	1	1,2	1,3	1,17	1,2	1,3	1,3	1,27
77,87	0	0	0	0	1,1	1,2	1,2	1,17
77	0	0	0	0	1	1	1,3	1,1

Kitosan I memiliki derajat deasetilasi paling besar dari kitosan II dan III. Derajat deasetilasi menunjukkan banyaknya gugus asetil yang putus pada gugus amida, dimana kitosan yang memiliki derajat deasetilasi besar akan memiliki banyak gugus amina ($-NH_3^+$) dalam larutannya sehingga kitosan akan bermuatan positif dan apabila terdifusi dalam sel bakteri dapat menyebabkan lisis pada sitoplasma bakteri (Thatte, 2004). Aktivitas antibakteri kitosan pada *S.aureus* lebih aktif dibandingkan bakteri *E.coli*. Sel-sel penyusun dinding sel pada bakteri *E.coli* memiliki struktur yang sederhana, dimana diluar membran sitoplasmanya hanya terdapat lapisan

peptidoglikan sehingga molekul-molekul asing dapat dengan mudah masuk kedalam sel. Sedangkan bakteri *S.aureus* memiliki dinding sel yang sangat rumit, dimana struktur bilayer tersebut berpotensi dalam menghalangi molekul-molekul asing yang akan masuk kedalam sel (Chun, 2011).

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh derajat deasetilasi kitosan terhadap proses coating nata de coco-kitosan. Kitosan dengan derajat deasetilasi tinggi memiliki kemampuan lebih baik dalam menghambat bakteri. Derajat deasetilasi

81,52% memiliki kemampuan antibakteri paling baik dibandingkan derajat deasetilisasi 77,87% dan 77%. Pengujian antibakteri pada coating kitosan-nata de coco dengan bakteri *E.coli* dan *S. aureus* menunjukkan uji positif sebagai antibakteri dengan adanya zona bening disekitar sampel nata de coco-kitosan masing-masing diameter zona bening sebesar 1.17 cm pada *E.coli* dan 1,27 cm pada *S.aureus*

DAFTAR PUSTAKA

- Bahtiar dan Rizal. (2006). Pengelolaan Budidaya Udang Indonesia. <http://www.brawijaya.ac.id>, 24 April 2006.
- Fitriani Dian, dkk. (2019). Biosintesis dan Karakterisasi Selulosa Bakteri menggunakan Media Sari Pedada (*Sonneratia caseolaris*) dan Kundur (*Bennica hispida*). Jurnal Selulosa. Vol. 9, No. 1, p-ISSN:2088-7000.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2022). KKP Perbarui Data Estimasi Potensi Ikan, Totalnya 12,01 Juta Ton per Tahun. Artikel. <https://kkp.go.id/djpt/artikel/39646-kkp-perbarui-data-estimasi-potensi-ikan-totalnya-12-01-juta-ton-per-tahun>.
- Khan, T.A, Peh, K.K, dan Chang, H.S. (2002). Reporting Degree of Deacetylation Values of Chitosan : The Influences of Analytical Methods. *J.Pharm.Sci.* 5 (3) : 205-212
- Knoor D. (2004). Functional properties of chitin and chitosan. *J. Food. Sci.*47 : 36 – 38.
- Magani, Alce dkk. (2020). Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia Coli. Jurnal Bios Logos. Vol.10 No. 1, Februari.
- Mardy DC, Sudjari S, Rahayu SI (2016). Perbandingan Efektivitas Kitosan (2-Acetamido-2-Deoxy-D-Glucopyranose) dan Nano Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Enterococcus faecalis* secara *In Vitro*. Majalah Kesehatan FKUB 2(4):229-240.
- Prameela, K. et al. (2010). Bioremediation of Shrimp Biowaste by Using Natural Probiotic for Chitin and Carotenoid Production an Alternative Method to Hazardous Chemical Method. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. Vol. I: Issue-3: Nov-Dec.
- Rahmatul Fajri, Yulida Amri. (2018). Uji Kandungan Kitosan Dari Limbah Cangkang Tiram (*Crassostrea* sp.). Jurnal Jeumpa, 5 (2)-Desember 2018.
- Salleh, E., Muhamad. (2005). *Starch-Based Antimicrobial Films Incorporated With Lauric Acid And Chitosan*. Department Of Bioprocess Engineering, Faculty Of Chemical Engineering
- Chun, HK. and Choi KS. (2011). Synthesis and Antibacterial Activity of Quaternized Chitosan Derivatives Having Different Methylene Spacers. Departement of Industrial Chemistry. College of Engineering. Hanyang University. Seoul 133-791.
- Dunn, ET., Grandmaison, EW., dan Goosen, MFA. (2001). Applications and Properties of Chitosan. *Technomic Pub*, Basel. p 3-30.
- Edward J, Marni K., Riardi P. (2016). Isolasi Kitin Dan Kitosan Dari Limbah Kulit Udang. Majalah Biam. e-ISSN: 2548-4842. P-ISSN: 0215-1464. And Natural Resources Engineering. Universitas Teknologi Malaysia (Utm) 81310 Johor. Malaysia.
- Savitri E, Soeseno N dan Adiarto T. (2010). Sintesis Kitosan, Poli (2-amino-2-deoksi-D-Glukosa). Skala Pilot Project dari Limbah Kulit Udang sebagai bahan baku Alternatif Pembuatan Biopolimer. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia. Yogyakarta.
- Setiati, Rini, dkk. (2020). Potensi Keberhasilan Kulit Udang Sebagai Bahan Dasar Polimer Kitosan: Studi Literatur. Jurnal Penelitian dan karya Ilmiah Lembaga Penelitian Universitas Trisakti. <http://dx.doi.org/10.25105/pdk.v6i1.8637>
- Siraleartmukul, K. (2004). The Relationship between Crystallinity and Degree of Deacetylation of Chitin from Crab Shell. *Journal of Metals Materials and Minerals*.
- Sivakami MS, Thandapani, G (2013). Preparation and Characterization of Nano Chitosan for Treatment Wastewaters. In journal of biological macromolecules 57:204-21.
- Synowiecki, J., and Al-Khateeb, N.A. (2003). Production, Properties, and Some New Applications of Chitin and its Derivatives.
- Thatte, M.R. (2004). Synthesis And Antibacterial Assessment Of Water-Soluble Hydrophobic Chitosan Derivatives Bearing Quaternary Ammonium Functionality. Louisiana State University and A & M College. Baton Rouge. LA.
- Vick, C.B. (2000). Adhesive Bonding of Wood Material. Forest Product Technology. USDA Forest Service. Wisconsin.
- Yati Sudarsih and Evi Triana. (2016). Pemanfaatan Limbah Kulit Udang untuk Menghasilkan Enzim Kitinase dari *Streptomyces macrosporeus* InaCC A45. Jurnal Kimia Terapan Indonesia. Pp 91-101. P-ISSN: 0853-2788. E-ISSN: 2527-7669.