

# EFEK KITOSAN DARI CANGKANG KEPITING LUNAK (*SCYLLA OLIVACEAE*) TERHADAP BAKTERI *VIBRIO HARVEYI*

Muhammad Rusdi<sup>1</sup>, Susisusantri<sup>2</sup>, Guntur Yusuf<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Farmasi FIK Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

<sup>2</sup>Fakultas MIPA, Universitas Islam Makassar

Kontak : rusdim01@yahoo.com

## ABSTRAK

Kitosan merupakan salah satu senyawa turunan kitin yang diperoleh melalui proses deasetilasi. Kitin yang merupakan bahan baku kitosan adalah salah satu komponen penyusun utama limbah cangkang kepiting lunak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek kitosan terhadap bakteri *Vibrio harveyi*. Proses pembuatan kitosan dari cangkang kepiting lunak dibagi dalam tiga tahap. Tahap pertama dilakukan proses deproteinisasi dengan menggunakan NaOH 3,5 %, tahap kedua yaitu proses demineralisasi dengan menggunakan HCL 1,5 N dan tahap ketiga yaitu proses destilasi kitin menjadi kitosan dengan menggunakan NaOH 50 %. Dan tahap selanjutnya yaitu aplikasi pengujian daya hambatan terhadap bakteri *Vibrio harveyi*. Hasil penelitian selama masa inkubasi 24 jam menunjukkan bahwa pada konsentrasi kitosan 200 ppm, 500 dan 1000 ppm masing-masing menimbulkan zona hambatan sebesar 8,3 mm; 11,16 mm dan 13,33 mm, sedangkan untuk kontrol negatif tidak menimbulkan zona hambatan.

**Kata kunci :** Cangkang kepiting lunak, Kitosan, *Vibrio harveyi*, Uji daya hambat

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan luas, wilayah lautnya lebih besar dari daratan, sehingga hasil perikananannya melimpah ruah. Salah satu hasil yang lebih banyak dibudidayakan dan potensial adalah budidaya kepiting. Salah satu kendala dalam kegiatan marikultur atau budidaya ini adalah penyakit pada biota budidaya. Timbulnya penyakit dapat disebabkan karena kondisi perairan yang kurang baik, kualitas pakan yang kurang, maupun

kualitas induk yang kurang baik (Hatmanti, A., 2003).

Beberapa jenis penyakit yang menyerang udang disebabkan oleh vibriosis, predator, parasit, bakteri, jamur dan virus. Penyakit vibriosis disebabkan oleh bakteri *vibrio sp.* Bakteri ini tergolong dalam famili vibrionaceae yang mempunyai tubuh berbentuk batang dan mempunyai kemampuan untuk bergerak karena dilengkapi dengan flagel. Ada 3 jenis bakteri *Vibrio* yang diidentifikasi

menyerang ikan-ikan laut serta udang yaitu *Vibrio Alginolitycus*, *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi* (Widodo, R., 2005,).

*Vibrio harveyi* adalah bakteri yang paling banyak menyebabkan penyakit dan kematian pada budidaya krustasea. Bakteri ini merupakan penyebab penyakit kunang-kunang atau penyakit berpendar, karena krustasea yang terinfeksi akan terlihat terang dalam keadaan gelap (malam hari). Pada dasarnya bakteri ini bersifat oportunistik dan akan menjadi patogen jika pada media pemeliharaannya terjadi goncangan secara drastik, seperti perubahan suhu, pH, salinitas dan faktor lainnya (Hatmanti, A., 2003).

Kepiting bertumbuh menjadi lebih besar setelah melewati proses molting (pergantian kulit). Proses molting adalah proses terlepasnya cangkang lama yang keras digantikan dengan cangkang baru. Saat ini, kulit (cangkang lama) tersebut yang merupakan limbah industri kepiting lunak dapat diolah untuk diambil kitin dan kitosan (Fujaya, Y.Dkk., 2012).

Kitin dan kitosan merupakan senyawa golongan karbohidrat yang dapat dihasilkan dari limbah hasil laut, khususnya golongan udang, kepiting, ketam dan kerang. Secara hayati, polimer polisakarida ini disintesa sampai 1 milyar ton per tahun di dunia. Namun yang baru dimanfaatkan hanya sebagian kecil saja (Lestari A, S., dan Maggy T.S, 2000)

Kitosan potensial sebagai antimikroba karena senyawa ini merupakan polimer alami sehingga diharapkan aman bagi manusia. Aktivitas antibakteri kitosan beragam terhadap bakteri uji yang berbeda. Uji menggunakan metode difusi agar menunjukkan penghambatan yang lebih tinggi terhadap gram positif (*L.monocytogenes*, *B.cereus* dan *S.aureus*) dan lebih rendah terhadap gram negatif (Meidina, dkk)

Permasalahan yang timbul dari uraian diatas adalah apakah kitosan dari cangkang kepiting lunak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan adalah autoklaf, bunsen, batang pengaduk, botol coklat, cawan petri, corong pisah, erlenmeyer, gelas beaker 1 L, inframerah, jangka sorong, labu ukur, lampu spritus, magnetik stirer, ose bulat, oven, pingset, pipet mikron, pemanas, rak tabung, statif klem, spoit, thermometer, tip kuning, tabung reaksi dan timbangan analitik.

Bahan-bahan yang digunakan adalah aquadest, aluminium foil, alkohol 70 %, bakteri *Vibrio harveyi*, cangkang kepiting lunak, etanol 90 %, HCl 1,5 N, HCl pekat encer, kapas, kertas saring,

label, lidi/tusuk sate, NaCl 0,9 %, NaOH 3,5 %, paper disk, tissu, Medium Trypticasein Soy Aga (TSA) dan medium Muller Hilton Agar (MHA).

### **Penyiapan dan Pengolahan sampel**

Sampel cangkang kepiting lunak (*Scylla olivaceae*) yang akan di uji diperoleh dari Desa Bojo Kabupaten Barru. Sampel awal cangkang kepiting yang sudah dibersihkan, dikeringkan dan dihaluskan sebanyak 50 g.

### **Pengolahan sampel**

#### **1. Deпротеinerasi**

Sampel cangkang kepiting yang sudah dihaluskan dengan menggunakan blender sebanyak 50 g, lalu dimasukkan ke dalam gelas piala 1 L ditambah dengan larutan NaOH 3,5% dengan perbandingan 6:1 b/v antara sampel dengan pelarut. Kemudian dipanaskan dan dilakukan pengadukan dengan menggunakan magnetik stirer selama 1 jam pada suhu 85 °C . Setelah itu didiamkan sampai dingin lalu disaring hingga diperoleh residu dan filtrat. Residu dicuci dengan air suling sampai pH netral dan dikeringkan didalam oven dengan suhu 85 °C selama 24 jam. Setelah kering kemudian ditimbang hasilnya 42,23 g untuk dilakukan proses selanjutnya, sedangkan filtratnya disimpan.

#### **2. Demineralisasi**

Serbuk hasil deпротеinerasi ditimbang sebanyak 42,23 g, dimasukkan kedalam gelas piala 1 L dan ditambahkan

dengan HCL 1,5 N dengan perbandingan 10:1 b/v antara sampel dengan pelarut, kemudian dicampurkan. Selanjutnya dipanaskan dan dilakukan pengadukan dengan menggunakan magnetik stirer selama 2 jam pada suhu 35 °C. Setelah itu campuran tersebut disaring. Residu berupa dicuci dengan air suling sampai pH netral. Selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 85 °C selama 24 jam. Setelah kering kemudian ditimbang hasilnya 6,05 g untuk dilakukan proses selanjutnya.

#### **3. Deasetilasi kitin menjadi kitosan**

Kitin yang telah dihasilkan pada proses diatas ditimbang 6,05 g lalu dimasukkan ke dalam gelas piala 1 L, ditambah dengan larutan NaOH 50 % dengan perbandingan 10 : 1 (NaOH: kitin) campuran tersebut dipanaskan dan diaduk dengan menggunakan magnetik stirer selama 2 jam pada suhu 90 °C. Didinginkan sebentar kemudian disaring untuk mendapatkan residu padatan. Residu padatannya dicuci dengan air suling lalu ditambahkan dengan larutan HCL encer, agar pH netral kemudian dikeringkan pada oven dengan suhu 85 °C selama 24 jam. Setelah kering ditimbang hasilnya 3,31 g. Bentuk akhir dari kitosan dapat berupa serbuk atau serpihan.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Setelah dilakukan pengamatan dan pengukuran zona hambatan pada efek

kitosan terhadap bakteri *Vibrio harveyi*, selama masa diinkubasi 24 jam pada suhu 37 0 C, hasil pengukuran bisa dilihat pada tabel sebagai berikut:

Tabel 1 . Diameter zona hambatan kitosan terhadap bakteri *Vibrio harveyi*.

Bakteri Uji	Diameter hambatan kitosan (mm)			
	200 ppm	500 ppm	1000 ppm	Kontrol negatif
<i>Vibrio harveyi</i>	8,5	11,83	12,16	-
	8,1	10,5	15,5	-
Rata-rata	8,3	11,16	13,33	-

Pembuatan larutan kitosan digunakan pelarut etanol 90 %, lalu dimasukan kedalam gelas ukur sebanyak 375 ml, kemudian ditambahkan dengan air suling 25 ml, dipanaskan. Ditimbang kitosan sebanyak 0,02 g untuk konsentrasi 200 ppm, 0,05 g untuk kosentrasi 500 ppm dan 0,1 g untuk konsentrasi 1000 ppm, kemudian dimasukan dalam labu ukur, selanjutnya dilarutkan dengan etanol 90 % dalam 100 ml yang sudah diencerkan lalu dikocok sampai larut. Kitosan yang terlarut ditetesi kedalam paperdisk lalu diletakan diatas medium uji.

Pada hasil penelitian dapat diperoleh bahwa diameter zona hambatan kontrol negatif (etanol 90% tanpa kitosan) tidak ada zona hambatannya dibanding

dengan zona hambatan yang terbentuk dengan menggunakan serbuk kitosan.

Bakteri *Vibrio harveyi* dipilih sebagai bakteri uji karena merupakan bakteri berbahaya dalam kegiatan budidaya kepiting cangkang lunak, dimana bakteri ini juga termasuk golongan bakteri gram negatif.

Dari hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa terlihat adanya zona hambatan disekitar paper disk,hal ini diduga karenakitosan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* dengan zona hambatan 8,5 mm untuk konsentrasi 200 ppm,10,5 mm untuk konsentrasi 500 ppm dan juga 14,5 mm untuk konsentrasi 1000 ppm.Adanya zona hambatan pada paper disk yang telah ditetesi dengan larutan kitosan membuktikan bahwa senyawa kitosan dapat berkerja secara efektif dan bukan dari pengaruh etanol, karena pada kontrol negatif tidak terbentuk zona hambatan. Berdasarkan hasil uji didapatkan bahwa pada konsentrasi 200 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm terdapat perbedaan zona hambatan. Pada zona hambatan dengan konsentrasi 200 ppmitu lebih kecil, begitu dengan konsentarsi 500 ppm kecuali pada kosentarsi 1000 ppm.

Besar kecilnya daerah hambatan dari bakteri uji yang dihasilkan disebabkan karena adanya perbedaan konsentrasi yang terdapat pada sampel. Sehingga diameter hambatan meningkat

sejalan dengan tingginya konsentrasi dari kitosan, dimana semakin tinggi konsentrasi maka, senyawa aktif semakin banyak yang bersifat sebagai antibakteri yang terkandung didalamnya, akan tetapi zona hambatan yang terbentuk tidak selalu mengikuti kaidah ini karena beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil pengukuran diameter zona hambatan yaitu laju difusi bahan pada medium, pertumbuhan organisme, kepekaan organisme terhadap zat aktif serta ketebalan dan kekentalan medium.

## KESIMPULAN

Kitosan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio herveyi* pada konsentrasi 200 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm masing-masing menimbulkan zona hambatan sebesar 8,3 mm; 11,16 mm dan 13,33 mm

## KEPUSTAKAAN

- Hatmanti, A., (2003), Penyakit Bakterial Pada Budidaya Krustasea Serta Cara Penanganannya, Oseana, Volume XXVIII, Nomor 3, 2003 : 1-10
- Widodo, R., (2005), Pembudidayaan dan prospek pasar udang putih yang tahan penyakit, PT Penebar swadaya, Jakarta.
- Kordi, H., (2012), Prinsip dan praktek budaya laut, Lilli Publisher. Yogyakarta
- Fujaya, Y.Dkk., (2012), Budidaya dan Bisnis Kepiting Lunak, Stimulasi

Molting dengan Ekstrak Bayam, Surabaya, Brilian Internasional.

Lestari A, S., dan Maggy T.S, (2000), Bioteknologi Hasil Laut, Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan IPB, Bogor

Meidina , dkk., Aktivitas antibakteri oligomer kitosan yang Diproduksi menggunakan kitonase dari isolate B. Licheniformis mb-2