

**Aktivitas Antibakteri Kitosan Kulit Udang  
*Vaname (Litopenaeus vannamei)* Terhadap Bakteri  
Kontaminan Bakso Ikan Tuna (*Thunnus* Sp.)**

**Rieny Sulistijowati, Lukman Mile, Kartika Wulandari**

Jurusan Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Negeri Gorontalo  
rinsulistijowati@gmail.com

**Abstrak**

Limbah hasil perikanan seperti cangkang udang memiliki manfaat menjadi kitosan sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri kitosan kulit udang *vaname* terhadap bakteri kontaminan bakso ikan tuna. Penelitian dilaksanakan di Balai Pengendalian dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (BPPMHP) Provinsi Gorontalo pada bulan Mei sampai Agustus 2014. Aktivitas antibakteri kitosan meliputi pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan metode observasi dan pengujian aktivitas antibakteri metode difusi agar secara eksperimental Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan konsentrasi larutan kitosan (0, 20, 35 dan 50 %). Hasil penelitian menunjukkan bahwa KHM kitosan terhadap bakteri kontaminan bakso ikan tuna yaitu konsentrasi 25 %. Berdasarkan Analisis Sidik Ragam (ANSIRA) konsentrasi larutan kitosan berpengaruh sangat nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap diameter zona hambat bakteri kontaminan bakso ikan tuna, masing-masing memiliki diameter zona hambat 0 mm, 13,875 mm, 15,25 mm dan 19,725 mm. Sedangkan pada uji BNT, konsentrasi 50 % berbeda sangat nyata dengan 0% serta berbeda nyata dengan 20% dan 35 %. Konsentrasi 35 % berbeda sangat nyata dengan 0 % tapi tidak berbeda dengan 20 %. Konsentrasi 20 % berbeda sangat nyata dengan 0 %. Konsentrasi 20, 35 dan 50 % memiliki nilai zona hambat dalam kategori kuat.

Kata kunci: antibakteri, kitosan, bakso ikan tuna

**Pendahuluan**

Udang merupakan salah satu komoditas perikanan Indonesia yang diminati oleh dunia. Salah satu produksi udang yang diminati adalah udang *vaname* dalam bentuk olahan udang beku. Produk olahan yang dihasilkan pada industri pembekuan udang, diantaranya dalam bentuk *head on* (udang utuh), *head less* (udang tanpa kepala) dan *peeled* (udang tanpa kepala dan kulit). Khusus produk *head less* dan *peeled* dihasilkan limbah industri potensial berupa kepala dan kulit udang yang cukup besar, yakni sebesar 30-50% dari keseluruhan berat badan (Manjang, 2013).

Limbah yang berupa kepala, kulit, ekor dan kaki udang tersebut memiliki potensi untuk dimanfaatkan salah satunya adalah kitosan dari kulit udang. Kitin dapat berasal dari komponen utama *eksoskeleton* invertebrata, *crustacea*, insekta, dan juga dinding sel fungi dan yeast berfungsi sebagai komponen penyokong dan pelindung.

Menurut Wardaniati dan Setyaningsih (2009), kitosan sangat berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan antibakteri, karena mengandung *enzim lysosim* dan gugus *aminopolysacharida* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan efisiensi daya hambat kitosan terhadap bakteri. Hardjito (2006) menyatakan, mekanisme kerja larutan kitosan yang bersifat bakteriostatik diduga hanya menghambat metabolisme kerja sel bakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhannya. Menurut Fernández dan Kim (2008) kitosan

memberikan aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, *S. aureus*, *Pseudomona aeruginosa* dan *Salmonella paratyphi*.

Antibakteri adalah senyawa biologis atau kimia yang dapat mengganggu pertumbuhan dan aktivitas bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Antibakteri yang mempunyai kemampuan membunuh bakteri disebut bakterisidal dan fungisidal untuk antifungi, sedangkan antibakteri yang mempunyai kemampuan hanya menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteristatik dan fungistatik untuk antifungi (Volk & Wheeler, 2002).

Sebelum zat antimikroba digunakan untuk keperluan pengobatan maupun pengawetan maka perlu diuji dahulu efeknya terhadap spesies bakteri tertentu. Pengujian aktivitas antibakteri adalah teknik untuk mengukur seberapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek bagi mikroorganisme (Jawetz *et al*, 2001).

Metode pengujian aktivitas antibakteri terdiri dari dua macam yaitu metode dilusi dan difusi. Metode dilusi yaitu penentuan penghambatan berdasarkan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) zat antibakteri. Metode difusi yang sering digunakan salah satunya adalah metode *disc diffusion*, pada metode ini piringan atau kertas cakram yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008). Diameter zona hambatan yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dengan cara mengurangi diameter keseluruhan (cakram + zona hambatan) dengan diameter cakram (Volk dan Wheeler, 2002). Pada penelitian ini, bakteri yang digunakan sebagai bakteri uji adalah bakteri kontaminan bakso ikan tuna (*Thunnus sp.*).

Bakso merupakan produk makanan yang mengandung protein dan kadar air yang tergolong tinggi dan rentan terhadap kerusakan sehingga memiliki daya awet atau masa simpan bakso maksimal hanya satu sampai dua hari pada suhu kamar (Kurniawati, 2008). Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan bakso ikan tuna kandungan proteinnya 17,25%, kadar air 67,36% dan TPC hari kedua  $1 \times 10^7$  koloni/g pada penyimpanan suhu kamar sampai hari kedua. Berdasarkan uraian di atas maka perlu dilakukan penelitian penggunaan pengawet alami seperti kitosan untuk menghambat pertumbuhan bakteri kontaminan pada bakso. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri kitosan kulit udang *vaname* terhadap bakteri kontaminan bakso ikan tuna.

## **Bahan dan Metode**

### *Alat dan Bahan*

Alat yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri kitosan adalah lemari inkubator, *autoclave*, *thermolyne*, cawan petri, neraca analitik, erlenmeyer, tabung reaksi, pipet volumetrik, jarum ose, gelas ukur dan lampu bunsen. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu kitosan kulit udang *vaname*, asam asetat 1 % kertas cakram, bahan kimia yang digunakan adalah *Butterfield phosphate buffered* (BFP), *Nutrien Agar* (NA), *aquades* dan alkohol 70 %. Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri kontaminan bakso ikan tuna.

### *Lokasi dan Waktu Penelitian*

Penelitian dilaksanakan di Balai Pengendalian dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (BPPMHP) Provinsi Gorontalo mulai bulan April-Mei 2014.

### *Analisis Data*

Aktivitas antibakteri kitosan meliputi 1. Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan metode dilusi secara observasi dan pengujian aktivitas antibakteri metode difusi agar secara eksperimental Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan konsentrasi larutan kitosan (0, 20, 35 dan 50 %).

### *Prosedur Kerja*

#### **a. Pembuatan kitosan**

Pembuatan kitosan kulit udang *vaname* mengacu pada prosedur pembuatan kitosan oleh Puspawati dan Simpen (2010) yang mencakup tiga proses yaitu *deproteinasi*, *demineralisasi* dan *deasetilasi*. *Deproteinasi* dilakukan untuk menghilangkan protein dari kulit udang. Serbuk udang ditimbang dengan berat 200 gr ditambahkan larutan NaOH 3% dilarutkan dalam 1.000 ml *aquades* kemudian dipanaskan menggunakan *thermolyne* selama 2 jam pada suhu 80°C sambil diaduk, kemudian disaring dan dicuci sampai pH netral. *Demineralisasi* dilakukan dengan cara serbuk hasil *deproteinasi* ditambahkan HCl 1 M (1 M HCl = 84 ml) dilarutkan dalam 1.000 ml *aquades*, dipanaskan selama 1 jam pada suhu 75°C sambil diaduk, kemudian disaring dan dicuci dengan air sampai pH netral kemudian dikeringkan dalam oven suhu 80°C selama 24 jam. Tahap ini menghasilkan kitin. Proses terakhir adalah *deasetilasi*, kitin ditambahkan NaOH 50 % dilarutkan dalam 1000 ml *aquades*, dipanaskan selama 1 jam pada suhu 75°C sambil diaduk, kemudian disaring dan dicuci sampai pH netral atau mendekati pH 7. Setelah itu dikeringkan dalam oven selama 24 jam, sehingga diperoleh kitosan.

#### **b. Aktivitas antibakteri kitosan**

##### **Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)**

Berikut ini adalah langkah-langkah pengujian KHM kitosan kulit udang *vaname* dengan metode dilusi (Puspitasari, 2008).

- a. Pembuatan pengenceran bakteri uji kontaminan bakso ikan tuna.
  - Sampel sebanyak 10 gram dihaluskan terlebih dahulu, kemudian dimasukkan ke dalam larutan pengencer (BFP) sampai mencapai 90 ml.
  - Selanjutnya dilakukan pengenceran dari larutan tersebut dipipet 1 ml, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml larutan (BFP) steril. Demikian seterusnya sampai pengenceran  $10^{-5}$ .

- b. Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Sebanyak 1 ml suspensi bakteri pada pengenceran  $10^{-5}$  dipipet menggunakan mikropipet kemudian dimasukkan ke dalam 8 tabung reaksi yang berisi larutan BFP. Lalu masing-masing tabung reaksi dimasukkan larutan kitosan sesuai konsentrasi sebanyak 1 ml yang telah disediakan sebelumnya. Pada penelitian ini konsentrasi larutan kitosan yang digunakan adalah 0; 1,56; 3,125; 6,25; 12,5; 25; 50 dan 100 %. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam.

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan berdasarkan tabung reaksi yang tidak menunjukkan kekeruhan yang diamati secara visual. Untuk mengetahui dan membedakan lebih pasti KHM, maka diinokulasikan secara goresan menggunakan jarum ose pada cawan petri dengan media NA standar lalu diinkubasi pada suhu 35°C selama 48 jam. KHM ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri kontaminan bakso ikan tuna pada media *agar*.

### **Pengujian aktivitas antibakteri kitosan metode difusi agar (Nurainy dkk ,2008)**

Pengujian aktivitas antibakteri larutan kitosan dilakukan dengan tahap kerja sebagai berikut :

- a. Sterilisasi alat  
Alat yang digunakan untuk uji antibakteri disterilkan dalam oven selama 24 jam sedangkan bahan yang digunakan sebagai pengujian disterilkan dalam *autoclave* dengan temperatur 121°C selama kurang lebih 1 jam.
- c. Bakteri uji  
Bakteri yang digunakan sebagai bakteri uji adalah bakteri kontaminan bakso ikan tuna yang sudah dilakukan pengenceran. Bakteri uji diambil dari pengenceran 10<sup>-5</sup>.
- d. Pembuatan media *agar*  
NA (*Nutrien Agar*) ditimbang sebanyak 3,52 gram kemudian dilarutkan dalam 150 ml *aquades*, dipanaskan diatas *hotplate stirer* sampai mendidih dan terbentuk larutan *agar* yang berwarna kuning bening.
- e. Pengujian antibakteri kitosan dengan metode difusi *agar*  
Sebanyak 0,1 ml suspensi bakteri dimasukkan ke dalam cawan petri lalu ditambahkan 15 ml NA, campuran digoyang memutar sampai homogen, didiamkan selama 15 menit sampai menjadi padat dalam cawan petri steril. Kemudian dimasukkan kertas cakram, yang sebelumnya kertas cakram tersebut direndam selama 30 menit dalam masing-masing konsentrasi larutan kitosan (0, 20, 35 dan 50%) yang terlebih dahulu dilarutkan ke dalam larutan asam asetat 1%. Selanjutnya cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.
- f. Setelah inkubasi, zona hambat pada cawan petri diukur sebagai aktivitas antibakteri kitosan terhadap bakteri kontaminan bakso ikan

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Aktivitas antibakteri kitosan**

#### **Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)**

Hasil pengujian KHM larutan kitosan terhadap bakteri kontaminan bakso ikan tuna dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengujian KHM larutan kitosan udang *vaname*

Konsentrasi larutan kitosan	Hasil uji KHM
0 %	+
1,56 %	+
3,125 %	+
6,25 %	+
12,5 %	+
25 %	-
50 %	-
100 %	-

Keterangan : + : keruh (ditumbuhi bakteri);  
- : jernih (tidak ditumbuhi bakteri)

Berdasarkan pada Tabel 1, setelah inkubasi 37°C selama 24 jam terlihat bahwa pada konsentrasi larutan 0; 1,56; 3,125; 6,25; 12,5 %, terlihat keruh hal ini menunjukkan bahwa

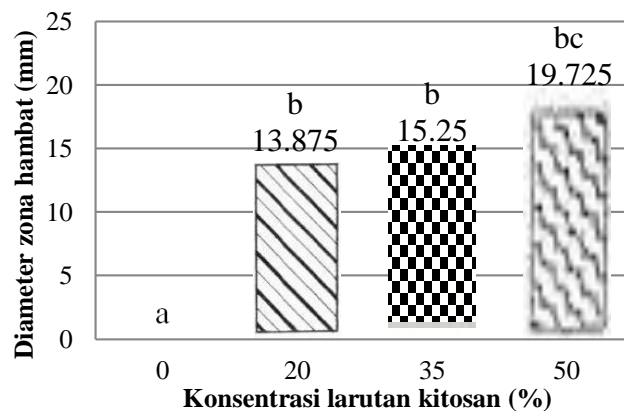
larutan kitosan tidak memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri kontaminan bakso ikan tuna. Sedangkan pada konsentrasi 25, 50, 100 %, memberikan efek antibakteri yang ditandai dengan tidak dijumpai pertumbuhan koloni bakteri atau secara visual larutan tersebut tampak jernih.

Menurut Wardaniati dan Setyaningsih (2009), kitosan kulit udang berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan antimikroba, karena mengandung enzim *lysosim* dan gugus *aminopolysacharida* yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba dan efisiensi daya hambat kitosan terhadap bakteri. Kemampuan dalam menekan pertumbuhan bakteri disebabkan kitosan memiliki polikation bermuatan positif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

### Aktivitas antibakteri larutan kitosan metode difusi *agar*

Pada hasil penelitian KHM, telah didapatkan konsentrasi minimum dari larutan kitosan yaitu 25 %. Pada konsentrasi 25 % ini memberikan efek antibakteri yang ditandai dengan tidak dijumpai pertumbuhan koloni bakteri. Dapat dilihat pada Tabel 1, bahwa 12,5 % ditumbuhi bakteri sedangkan 25 % tidak ditumbuhi bakteri. Sehingga konsentrasi yang digunakan pada aktivitas antibakteri dengan metode difusi *agar* (kertas cakram) konsentrasi yang digunakan adalah 20, 35 dan 50 %.

Hasil pengujian antibakteri kitosan udang *vaname* terhadap bakteri kontaminan bakso ikan tuna dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Histogram zona hambat larutan kitosan terhadap bakteri kontaminan bakso ikan tuna

Metode difusi *agar* didasarkan pada kemampuan senyawa-senyawa antibakteri yang diuji untuk menghasilkan diameter zona penghambatan di sekeliling kertas antibiotik (cakram) terhadap bakteri yang digunakan sebagai penguji (Nurainy, 2008). Metode difusi terjadi karena senyawa antibakteri terdifusi ke dalam media *agar* sehingga di sekitar kertas cakram tidak terjadi pertumbuhan yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat atau zona bening.

Pada Gambar 1 terlihat bahwa larutan kitosan memberikan efek penghambatan terhadap bakteri kontaminan bakso ikan tuna. Pada konsentrasi 50 % terjadi penghambatan terbesar, sedangkan pada konsentrasi 20 % memiliki penghambatan terkecil. Berdasarkan Analisis Sidik Ragam (ANSIRA), konsentrasi larutan kitosan berpengaruh sangat nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap bakteri kontaminan bakso ikan tuna. Sedangkan pada uji BNT, konsentrasi 50 % berbeda sangat nyata dengan konsentrasi 0 serta berbeda nyata dengan konsentrasi 20% dan 35 %. Konsentrasi 35 % berbeda sangat nyata dengan konsentrasi 0 % tapi tidak berbeda dengan konsentrasi 20 %. Konsentrasi 20 % berbeda sangat nyata dengan

konsentrasi 0 %. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi kitosan sampai 50 %, maka semakin besar zona hambat yang dihasilkan.

Faktor yang dapat memengaruhi kerja zat antimikroba menurut Pelczar dan Chan (1988) adalah, a) konsentrasi zat antimikroba : semakin tinggi konsentrasi suatu zat antimikroba semakin tinggi daya antimikrobanya, artinya banyak bakteri akan terbunuh lebih cepat bila konsentrasi zat tersebut lebih tinggi; b) jumlah mikroorganisme : semakin banyak jumlah organisme yang ada maka makin banyak pula waktu yang diperlukan untuk membunuhnya; c) spesies mikroorganisme : spesies mikroorganisme menunjukkan ketahanan yang berbeda-beda terhadap suatu bahan kimia tertentu.

Berdasarkan histogram Gambar 1, pada pengujian aktivitas antibakteri kitosan kulit udang *vaname* konsentrasi yang digunakan adalah 0, 20, 35 dan 50 % konsentrasi tersebut masing-masing memiliki zona hambat yaitu 0 mm, 13,875 mm, 15,25 mm dan 19,725 mm. Konsentrasi 20, 35 dan 50 % memiliki nilai zona hambat dalam kategori kuat. Sedangkan pada konsentrasi 0 % tidak memiliki zona hambat, yang artinya tanpa pemberian kitosan tidak menghasilkan zona penghambatan terhadap bakteri kontaminan bakso ikan tuna. Menurut Solihah (2009) bahwa kekuatan antibakteri digolongkan menjadi 3, yaitu kuat jika menghasilkan diameter zona hambat lebih dari 8 mm, aktivitas sedang jika menghasilkan diameter zona hambat 7 – 8 mm, dan aktivitas lemah jika memiliki diameter zona hambat kurang dari 7 mm.

## KESIMPULAN

KHM kitosan terhadap bakteri kontaminan bakso ikan tuna yaitu konsentrasi 25 %. Pada pengujian aktivitas antibakteri konsentrasi 20, 35 dan 50 % dapat menghambat pertumbuhan bakteri kontaminan bakso ikan tuna. Konsentrasi tersebut masing-masing memiliki zona hambat 13,875 mm, 15,25 mm dan 19,725 mm. Ketiga konsentrasi tersebut memiliki nilai zona hambat dalam kategori kuat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agnes SH, Kusumawati HN, dan Estuningsih. 2014. *Perbandingan Uji Aktivitas Antibakteri Chitooligosakarida Terhadap Escherichia Coli Atcc 25922, Staphylococcus Aureus Atcc 25923 dan Salmonella Typhi Secara In Vitro*. Surakarta.
- Fernandez, Kim SO. 2004. *Physicochemical and Functional Properties of Crawfish Chitosan as Affected by Different Processing Proto-cols*. Thesis. Department of Food Science, Seoul National University.
- Hardjito L. 2006. *Aplikasi Kitosan Sebagai Bahan Tambahan Makanan dan Pengawet*. Seminar Nasional Kitin-Kitosan. Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institute Pertanian Bogor.
- Jawetz E, Melnick JL dan Adelberg EA. 2001. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Kurniawati. 2008. *Peran Chitosan sebagai Pengawet Alami dan Pengaruhnya Terhadap Protein Serta Organoleptik pada Bakso Daging Sapi*. Skripsi. Surakarta: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Muhammadiyah.
- Manjang Y. 2013. *Analisa Ekstrak Berbagai Jenis Kulit Udang Terhadap Mutu Kitosan*. *Jurnal Penelitian Andalas*. 12 (V) : 138 – 143, 2003.
- Nurainy F, Rizal S, Yudiantoro. 2008. *Pengaruh Konsentrasi Kitosan Terhadap Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Agar (Sumur)*. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*, Volume 13, No. 2. Lampung: Universitas Lampung.
- Pelczar WJ, Chan ECS. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press

- Puspawati NM dan Simpen IN. 2010. Optimasi Deasetilasi Kitin Dari Kulit Udang Menjadi Kitosan Melalui Variasi Konsentrasi NaOH. Universitas Udayana. *Jurnal kimia* 4(1) Januari 2010:79-90.
- Puspitasari I. 2008. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bawang Putih (*A. sativum*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* In Vitro. Artikel karya ilmiah. Semarang : Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Solihah, M. 2009. Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri dari Daun Secang (*Caesalpinia Sappan* L.). Skripsi. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Volk dan Wheeler. 2003. *Mikrobiologi Dasar*. Terjemahan Oleh Soenarto Adisoemarno. Surabaya: Penerbit Erlangga.
- Wardaniati RA dan Setyaningsih S. 2009. *Pembuatan Chitosan Dari Kulit Udang dan Aplikasinya Untuk Pengawetan Bakso*. Semarang: Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik. Undip.