

AKTIVITAS ANTIBAKTERI KITOSAN MONOSAKARIDA KOMPLEKS SEBAGAI PENGHAMBAT BAKTERI PATOGEN PADA OLAHAN PRODUK PERIKANAN

Selly Ratna Sari^{1*}, Ace Baehaki², Shanti Dwita Lestari², Elmeizy Arafah³, Guttifera¹

¹Ilmu Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Selatan

²Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya

³Agribisnis, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Selatan

Korepodensi : sellyratnasari@uss.ac.id

Cara sitasi: Sari SR, Baehaki A, Lestari SD, Arafah E, Guttifera. 2020. Aktivitas antibakteri kitosan monosakarida kompleks sebagai penghambat bakteri patogen pada olahan produk perikanan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 23(3): 542-547.

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antibakteri pada kompleks kitosan monosakarida (glukosa, galaktosa dan fruktosa) terhadap *Vibrio cholerae*. kitosan monosakarida kompleks dibuat dengan cara memodifikasi kitosan dengan gula monosakarida yang disterilisasi menggunakan autoklaf dengan variasi 1% glukosa, 1% galaktosa dan 1% fruktosa. Analisis dibuktikan dengan menguji aktivitas bakteri *V. cholerae* yang sering digunakan untuk indikasi bakteri patogen pada produk perikanan. Penggunaan kitosan dan gula monosakarida diduga dapat menghambat *V. cholera* yang merupakan indikator bakteri patogen produk perikanan. Kitosan yang dimodifikasi menunjukkan lebih baik dibandingkan penggunaan kitosan tanpa modifikasi (kontrol). Kitosan dengan modifikasi fruktosa menunjukkan daya hambat tertinggi *V. cholerae* yaitu 9 mm.

Kata kunci : perikanan, fruktosa, galaktosa, glukosa sterilisasi

Antibacterial Of Chitosan Monosaccharide Complex As An Inhibitor Of Pathogenic Bacteria For Fishery Products

Abstract

The purpose of this research was to determine antibacterial activity of chitosan monosaccharide complex (glucose, galactose and fructose) against *Vibrio cholerae*. Chitosan monosaccharide complex was made by modifying chitosan disinfecting monosaccharides used autoclaving that had variation 1% glucose, 1% galactose and 1% fructose. Analysis had been proved by testing bacterial activity of *V.cholerae* which are frequently used for indications pathogenic bacteria of fishery product. It is Suspected that chitosan and Monosaccharides can inhibit *V. cholera* as pathogenic bacteria of Fish Product. Modified Chitosan shows better than the use of chitosan without modification (control). Chitosan with fructose modification indicates highest power of *V. cholerae* is 9 mm.

Keyword: fishery, fructose, galactose, glucose, sterilization

PENDAHULUAN

Aktivitas antibakteri pada kitosan monosakarida kompleks telah terbukti dapat menghambat beberapa bakteri misalnya *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis* indikator bakteri perusak makanan (Sari *et al.* 2019). Beberapa penelitian perbaikan biomaterial menggunakan kitosan sebagai bakteri juga berhasil dimodifikasi (Liang *et al.* 2020). Kitosan-monosakarida digunakan sebagai pengawet surimi ikan

gabus (Lestari *et al.* 2019). Komoditas yang telah diawetkan menggunakan kitosan sudah cukup banyak diantaranya surimi ikan gabus, pembuatan *edible film* gelatin kitosan dengan tambahan genjer pada produk pempek (Ali *et al.* 2017), *coating* kitosan dengan konsentrasi 3% dapat mempengaruhi mutu dan umur simpan daging ikan giling gabus (Toynbe *et al.* 2015) dan pengawetan buah longan (Lin *et al.* 2019).

Kitosan dapat menghambat pertumbuhan

beberapa bakteri karena memiliki potensi antioksidan sebagai pengawet (Sari *et al.* 2013). Penggunaan larutan kitosan sebagai film pelapis filet ikan salmon dan pangan laut pada suhu 5 °C menghasilkan jumlah TVB, TPC dan pH yang rendah (Baptista *et al.* 2020). Pemanfaatan kitosan sebagai antibakteri belum secara maksimal salah satunya untuk merusak makanan yang disebabkan oleh bakteri patogen olahan produk perikanan. Solusi penelitian yang telah dilakukan adalah dengan penambahan jenis gula. Gula dapat bereaksi dengan kitosan membentuk suatu reaksi *Maillard* sehingga dapat membentuk antioksidan lebih baik sebagai indikator perusak makanan olahan ikan (Bakry *et al.* 2018). Diduga penambahan kitosan 1% dan gula monosakarida 1% contohnya glukosa, galaktosa dan fruktosa yang disterilisasi dapat menghambat bakteri pada olahan perikanan misalnya *Vibrio cholera*.

Kitosan monosakarida membentuk reaksi *Maillard* yang terbukti dapat melawan bakteri perusak makanan dan bakteri patogen serta memiliki antioksidan (Mahae *et al.* 2011), sedangkan penambahan berbagai macam gula (laktosa, arabinosa dan galaktosa) dapat menghambat *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus* (Mahae *et al.* 2011). Modifikasi kitosan dengan beberapa gula dan aktivitasnya dalam menghambat beberapa bakteri sudah dilakukan namun, belum ada yang diujikan terhadap *Vibrio cholera*. Bakteri ini menjadi salah satu indikator bakteri patogen produk olahan perikanan, misalnya kerang-kerangan. Penggunaan bahan alami misalnya kitosan dan monosakarida dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang merugikan ikan maupun produk olahan ikan. Sehingga Penelitian ini harus segera dikembangkan untuk menjadi solusi untuk menghambat bakteri patogen makanan seperti olahan produk khususnya perikanan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan menentukan aktivitas antibakteri pada kompleks kitosan monosakarida (glukosa, galaktosa dan fruktosa) terhadap bakteri *V. cholerae*.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama penelitian ini adalah kitosan dari PT Vital House Indonesia, *V. cholera* dari Badan pengawasan obat dan makanan (BPOM), glukosa (Merck), galaktosa (Merck), fruktosa (Merck) dan akuades dari Teknologi Hasil Pertanian UNSRI. Bahan kimia yang digunakan untuk analisis adalah *nutrient broth* (OXOID), *nutrient agar* (OXOID), alkohol 70% (Merck), asam asetat 98% (Merck), bufer fosfat 0, 2 M pH 6, 6 (merck). Alat yang digunakan meliputi autoklaf (Hirayama HL36AE, Jepang), cawan petri, inkubator (Mettler IN55, Jerman), *laminar air flow*, neraca analitik, spektrofotometer (Shimadzu UV1800, Jepang), tabung reaksi, timbangan analitik (Fujitsu Electronic.co.id), dan *vortex* (Gemmy 300, Taiwan).

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif dengan melihat daya hambatnya terhadap *V. cholerae*. Perlakuan yang diberikan adalah perbedaan kompleks Kitosan monosakarida yang diulang sebanyak tiga kali. Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap kegiatan (Mahae *et al.* 2011), antara lain preparasi larutan asam asetat, pembuatan larutan kitosan dengan variasi monosakarida, pembuatan kompleks kitosan monosakarida (CMC), dan pengujian antibakteri. Metode penelitian dapat dilihat pada *Figure 1*.

Preparasi larutan asam asetat (Mahae *et al.* 2011)

Asam asetat glasial diambil sebanyak 1,02 mL (98% menjadi 1%) dan ditambahkan dengan akuades hingga mencapai 100 mL atau sampai garis tanda, kemudian dihomogenkan.

Pembuatan larutan kitosan dengan variasi monosakarida (Mahae *et al.* 2011)

Kitosan ditimbang sebanyak 1 g (1%) dan dimasukkan ke dalam gelas beaker, dilarutkan dengan 1% larutan asam asetat sebanyak 50 mL dan di-*stirrer* selama ±30 menit (sampai

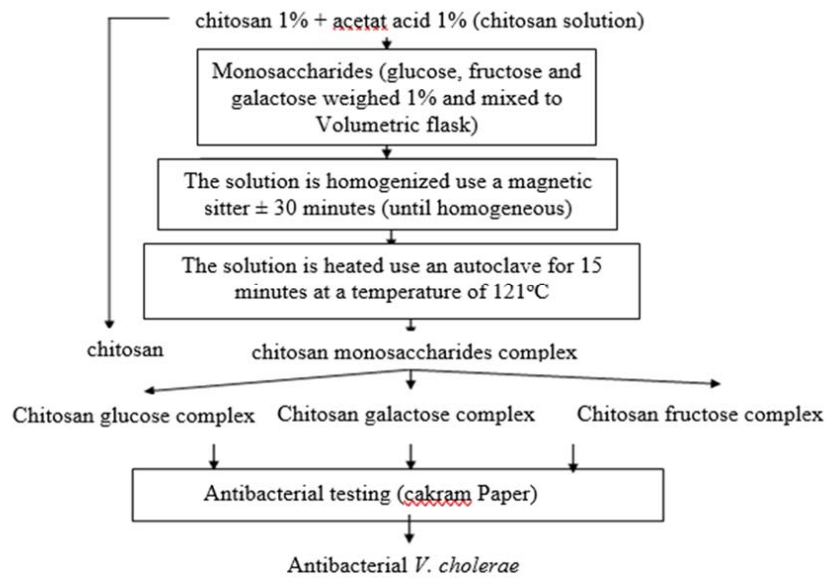


Figure 1 Research framework

homogen). Setelah homogen ditambahkan sebanyak 1 g (1%) monosakarida (glukosa, fruktosa dan galaktosa), kemudian volume disesuaikan hingga 100 mL menggunakan labu ukur. Larutan yang sudah dicampur kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit untuk pembuatan kompleks kitosan monosakarida (CMC) (Mahae *et al.* 2011).

Analisis antibakteri dilakukan dengan metode kertas cakram yang mengacu metode Kirby-bauer Atlas (1997), dengan *V. cholerae* digunakan sebagai bakteri uji.

Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ada 4 yaitu :

- A0 (1% Kitosan + 1% Asam Asetat),
- A1 (1% Kitosan + 1% Asam Asetat + 1% Glukosa),
- A2 (1% Kitosan + 1% Asam Asetat + 1% Galaktosa),
- dan
- A3 (1% Kitosan + 1% Asam Asetat + 1% Fruktosa).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *V. cholerae* dilakukan dengan cara mengukur diameter daerah hambatan (DDH) yang terbentuk disekitar kertas cakram yang telah dicelupkan pada perlakuan kitosan, kompleks kitosan glukosa, kompleks kitosan galaktosa dan kompleks kitosan fruktosa. Metode kertas cakram merupakan metode paling sederhana dan efektif untuk mengetahui aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *V. cholerae*.

Hasil pengukuran diameter daerah hambatan setiap perlakuan dapat dilihat pada *Figure 2*.

V. cholerae merupakan bakteri yang terdapat di perairan misalnya sungai, muara sungai, kolam dan laut (Mehrabadi *et al.*, 2012). Bakteri yang sering mencemari makanan laut adalah bakteri marga *Vibrio*. Bakteri ini merupakan jenis bakteri yang dapat mencemari pangan hasil laut dan mengurangi kualitas ekspor laut. *V. cholerae* penyebab penyakit kolera. Oleh karena itu, penelitian antibakteri terhadap *V. cholerae* termasuk hal penting untuk menjaga kualitas pangan olahan terutama jenis ikan.

Figure 2 menunjukkan bahwa seluruh perlakuan dapat menghambat pertumbuhan *V. cholerae*. Kompleks kitosan monosakarida menunjukkan diameter daerah hambatan sebesar 6,5 sampai 9,0 mm. Perlakuan A0 mempunyai diameter daya hambat (DDH) sebesar 6,5 mm. Perlakuan A1 yaitu kitosan glukosa sebesar 8,6 mm. Perlakuan A2 menggunakan galaktosa dan kitosan sebesar 7,7 mm dan perlakuan A3 memiliki DDH tertinggi 9,0 mm. Perbedaan daya hambat disebabkan penggunaan gula yang berbeda. Hal tersebut disebabkan beberapa bakteri memiliki kemampuan resistensi dengan enzim aminoglicosida N-Asetiltransferase (AATs) (RISBINKES 2011) dan tumbuh baik pada Media yang mengandung gula misalnya *Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose* (Yuhantaka 2018) serta penghambatan maksimum pada

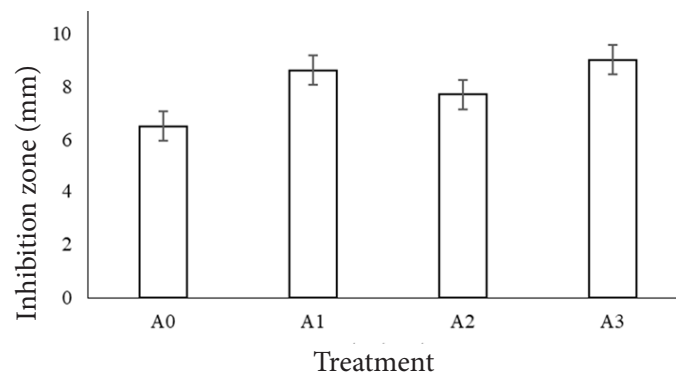


Figure 2 Inhibition zone of *V. cholerae*; A0:1%(chitosan +acetic acid); A1:1%(chitosan+acetic acid+ glucose); A2:1%(chitosan+acetic acid+galactose); A3:1% chitosan+acetic acid+fructose).

glukosa galaktosa dan glukosa fruktosa sebesar 5 dan 2 (Bag 1974). Hal ini menunjukkan bahwa kompleks kitosan monosakarida memiliki senyawa antibakteri terhadap bakteri gram negatif misalnya *V. cholerae*. Diameter daerah hambatan terbesar terdapat perlakuan A3. Jawetz dan Adelberg (2017) melaporkan bahwa saat isolasi bakteri *vibrio*, media tambahan yang digunakan adalah fruktosa. Tujuan penambahan fruktosa, Tujuan penambahan fruktosa yaitu menjelaskan fungsi fruktosa dalam menghambat *Vibrio*.

Bakteri ini merupakan salah satu bakteri yang dapat dihambat oleh kompleks kitosan monosakarida. Sebagian besar isolat-isolat tersebut membentuk zona hambat yang jernih dan zona hambat yang keruh. Zona hambat yang jernih disebabkan produksi antibakteri yang bersifat membunuh bakteri uji sedangkan zona bakteri yang keruh karena antibakteri yang dihasilkan bersifat hanya menghambat perkembangan bakteri. Ada beberapa daerah hambat yang jernih dan zona hambat yang keruh pada pengujian kompleks kitosan monosakarida, hal ini diduga karena antibakteri yang dihasilkan bersifat bakteriostatik. Kompleks kitosan fruktosa memperlihatkan diameter daerah hambatan yang jernih pada *V. cholerae*.

Masing-masing dari bakteri memiliki struktur yang berbeda misalnya bakteri gram positif terdiri dari dinding sel yang tebal dan berlapis tunggal dengan komposisi dinding sel terdiri dari lapisan peptidoglikan dan asam teikoat sedangkan bakteri gram negatif misalnya *V. cholerae*

mempunyai kandungan peptidoglikan yang dapat menentukan bentuk sel serta memberikan kekakuan yang dibutuhkan untuk melindungi dari bakteri perombakan osmotik, kitosan memiliki kemampuan menghambat sintesis peptidoglikan sehingga bakteri tidak dapat melakukan replikasi karena dinding peptidoglikan koloni bakteri tersebut dihambat senyawa dari kitosan dan kompleks kitosan monosakarida. Hal tersebut membuat bakteri gram negatif tidak mampu mereplikasi diri dan tumbuh dalam suatu medium. Selain itu, sifat penting kitosan sebagai antibakteri disebabkan muatan positif dalam larutan asam, karena gugus amina pada molekul kitosan mengikat proton yang sesuai (Pebriani *et al.* 2012). Selain itu kitosan berpotensi sebagai bahan antimikroba karena mengandung enzim lisosim dan gugus aminopolisakarida (Rilda *et al.* 2014).

Bakteri gram negatif yaitu *V. cholerae* mempunyai ketahanan antimikroba yang lebih baik. Bakteri gram negatif memiliki sistem seleksi terhadap benda-benda asing yaitu pada lapisan lipopolisakarida dan struktur sel-sel mikroba lebih kompleks, sedangkan bakteri gram positif lebih sederhana sehingga senyawa antimikroba mudah untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja (Zuhud 2011). Pada penelitian ini beberapa perlakuan efektif, yaitu A3, dalam menghambat bakteri negatif misalnya *V. cholerae*. Hal ini disebabkan sifat kitosan itu sendiri dan terbentuknya reaksi *Maillard* dari pencampuran monosakarida.

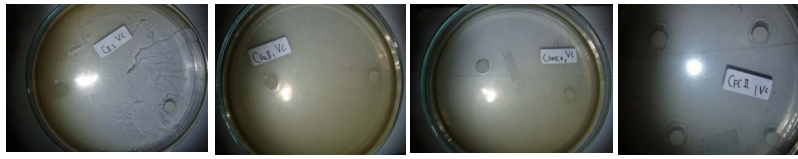


Figure 3 Inhibition zone of chitosan monosaccharides complex in *V. cholerae*

KESIMPULAN

Komplek kitosan monosakarida memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat *V. cholerae*. Diameter daya hambat bakteri tertinggi *V. cholerae* (9 mm) dengan penggunaan gula fruktosa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Ketua YP4SS, Ketua Pembina Universitas Sumatera Selatan dan laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Universitas Sriwijaya atas dukungan yang telah diberikan sehingga penelitian dapat terlaksana.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali H, Baehaki A, Lestari S. 2017. Karakteristik edible film gelatin-kitosan dengan tambahan ekstrak genjer (*Limncharis flava*) dan aplikasi pada pempek. *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan-Fishtech*. 6(1) : 26-38.
- Atlas R.M. 1997. *Principles of Microbiology*. Second Edition. Iowa: WNC Brown.
- Bakry AM, Chang M, Xiong S, Yin T, Zhang B, Huang Q. 2018. Chitosan-glucose Maillard reaction products and their preservative effects on fresh grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets during cold storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 99(5): 2158-2164.
- Bag J. 1974. Glucose inhibition of the transport and phosphoenolpyruvate-dependent of galactode and fructose in *Vibrio cholerae*. *Journal of Bacteriology*. 118 (2): 764-767.
- Jawetz. M, Adelberg. 2017. *Mikrobiologi kedokteran*. Jakarta (ID): EGC.
- Lestari S, Baehaki A, Meliza R. 2019. Aktivitas antibakteri kompleks kitosan -monosakarida terhadap patogen dalam surimi ikan gabus sebagai model matriks pangan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 22(1): 80-88.
- Liang C, Lingm Y, Wei F, Huang L, Xiaomao L. 2020. A novel antibacterial mesh coated by chitosan and tigecycline for pelvic floor repair and its biological performance. *Regenerative Biomaterials*. 7(5): 483-490.
- Lin Y, Lin Y, Lin M, Lin H. 2019. A novel chitosan alleviates pulp breakdown of harvested longan fruit by suppressing disassembly of cell wall polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*. 217 (1): 126-134.
- Mahae N, Chalata C, Muhamud. 2011. Antioxidant and antimicrobial properties of chitosan sugar complex. *Journal International Food Research*. 18(4) : 1543-1551.
- Pebriani RH, Rilda Y, Zulhadjri. 2012. Modifikasi komposisi kitosan pada proses sintesis komposit TiO₂-kitosan. *Jurnal Kimia Unand*. 1(1): 40-47.
- Baptista RC, Horita CN, Sant'Ana AS. 2020. Natural products with preservative properties for enhancing the microbiological safety and extending the shelf-life of seafood: A review. *Food Research International*. 127: 1-86.
- Rilda Y, Asnilawati R, Alif A. 2014. Sintesis nanoclustertio₂-sio₂/kitosan dengan penambahan surfaktan sds. *Jurnal Kimia Unand*. 3(3): 12-16.
- [RISBINKES] Riset Pembinaan Kesehatan. 2011. *Laporan Penelitian Pola Resistensi Bakteri Vibrio cholerae dari Isolat KLB Diare Kabupaten Jember dan Bogor Tahun 2010*. Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan. Jakarta (ID) :Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.
- Sari SR, Baehaki A, Lestari SD. 2013. Aktivitas antioksidan kompleks kitosan monosakarida (*chitosan monosaccharides complex*). *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan Fishtech*. 2 (1): 69-73.
- Sari SR, Baehaki A, Lestari SD. 2019. Pemanfaatan kitosan dengan variasi gula sebagai potensi pengawet alami makanan

- (Pengujian bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis*). *Prosiding Seminar Nasional II Hasil Litbangyasa Industri*.
- Toynbe S, Baehaki A, Lestari SD. 2015. Pengaruh aplikasi kitosan sebagai coating terhadap mutu dan umur simpan daging giling ikan gabus (*Channa striata*). *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan Fishtech*. 4(1): 67-74.
- Yuhantaka N. 2018. Identifikasi bakteri *Vibrio cholerae* pada terasi tanpa penambahan dan dengan penambahan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai pewarna alami. (Karya Tulis Ilmiah) Jombang(ID) : Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Insan Cendekia Medika.
- Zuhud EAM. 2011. Aktivitas ekstrak kedawung (*Parkia roxburghii* G. Don) terhadap bakteri patogen. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 12(1): 6-12 .