

## VISKOSITAS DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI KITIN BERPARTIKEL NANO YANG DIHIDROLISIS DENGAN VOLUME HCl BERBEDA

Asri Silvana Naiu\*, Nikmawatususanti Yusuf

Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Kelautan dan Teknologi Perikanan, Universitas Negeri Gorontalo  
Jalan Sudirman Nomor 6 Kota Gorontalo, Gorontalo 96128

Diterima: 23 Oktober 2023/Disetujui: 14 Mei 2024

\*Korespondensi: [asri.silvana@ung.ac.id](mailto:asri.silvana@ung.ac.id)

**Cara sitasi (APA Style 7<sup>th</sup>):** Naiu, A. S., & Yusuf, N. (2024). Viskositas dan aktivitas antibakteri kitin berpartikel nano yang dihidrolisis dengan volume HCl berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(7), 611-621. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v27i7.50979>

### Abstrak

Kitin dan kitosan memiliki sifat antibakteri. Kitin bersifat tidak mudah larut sehingga harus diubah menjadi partikel yang mudah larut. Pembentukan kitin menjadi partikel yang mudah larut dapat dilakukan melalui memodifikasi menjadi bentuk nano menggunakan senyawa asam dan proses destruksi berkecepatan tinggi. Proses pengecilan partikel diduga dapat memengaruhi aktivitas antibakteri dan viskositas kitin. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan perbandingan kitin dan HCl terbaik untuk menghasilkan nano kitin berdasarkan zona hambat bakteri yang maksimum dan viskositas larutan nanokitin. Bakteri yang diuji adalah *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella* sp. Perlakuan yang diberikan adalah perbandingan kitin dan HCl, yaitu 1:8, 1:10, dan 1:12 (b/v). Parameter yang dianalisis meliputi rendemen partikel nanokitin, zona hambat bakteri, dan viskositas larutan nanokitin. Perbandingan kitin dan HCl 1:8 merupakan hasil terbaik menghasilkan nanokitin 70,44%. Perbedaan jumlah HCl dalam menghidrolisis kitin berpengaruh terhadap zona hambat bakteri. Zona hambat terhadap *Salmonella* sp. yaitu 7,4 mm dan *S. aureus*, yaitu 8,10 mm. Zona hambat untuk *E. coli* hanya terdapat pada perlakuan perbandingan 1:10. Nilai viskositas tidak dipengaruhi oleh perbedaan perbandingan kitin dan HCl. Nanokitin dari perbandingan 1:8 berpotensi sebagai bahan aktif dalam pembuatan *edible film*.

Kata kunci: destruksi, nanokitin, rendemen, zona hambat bakteri

## Viscosity and Antibacterial Activity of Nano-Particle Chitin Hydrolyzed with Different Volumes of HCl

### Abstract

Chitin and its derivative chitosan possess antibacterial properties. To facilitate their application, chitin, which is highly insoluble, must be converted into soluble particles. This can be achieved by reducing the particle size using acidic compounds and a high-speed destruction process. It is believed that particle reduction affects the antibacterial activity and viscosity of chitin. The objective of this study was to determine the optimal ratio of chitin and HCl for producing nano-chitin based on the maximum zone of bacterial inhibition and the viscosity of the resulting solution. The bacteria tested were *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Salmonella* sp. The treatments were administered at three different ratios of chitin to HCl: 1:8, 1:10, and 1:12 (w/v). The parameters analyzed included the yield of nanochitin particles, zone of bacterial inhibition, and viscosity of the nanochitin solution. A chitin: HCl ratio of 1:8 yielded the best result, producing 70.44% of nanochitin. Differences in the amount of HCl used to hydrolyze chitin affected the bacterial inhibition zone. The inhibition zones of *Salmonella* sp. (7.4 mm), and *S. aureus* (8.10 mm). The only observed zone of inhibition for *E. coli* was treatment with 1:10. Viscosity was not affected by the different chitin-to-HCl ratios. Nanochitin from the ratio of 1:8 has the potential as an active ingredient in the manufacture of edible film.

Keywords: bacterial inhibition zone, destruction, nanochitin, yield

## PENDAHULUAN

Kitin merupakan senyawa biopolimer yang ditemukan pada cangkang atau kerangka krustasea, serangga, dan dinding sel beberapa kelompok jamur. El Knidri *et al.* (2018) menyatakan bahwa kitin merupakan polisakarida alami berbentuk kristal berwarna putih yang bersifat hidrofobik, asam organik, alkali pekat, dan pelarut organik, tetapi hanya larut dalam asam kuat, yaitu asam sulfat, asam nitrat, dan asam fosfat sehingga membatasi aplikasinya pada *electrospinning*. Natalia *et al.* (2021) menyatakan bahwa kitin tidak dapat larut pada asam lemah di antaranya asam asetat, asam sitrat maupun asam format. Kitin yang diperoleh dari cangkang udang *Penaeus monodon* adalah 36% (Xu *et al.*, 2008), sedangkan Kaya *et al.* (2013) melaporkan bahwa kitin yang terkandung dalam krustasea *Gammarus argaeus* adalah 11-12%. Kitin dapat diaplikasikan di berbagai bidang industri, di antaranya medis, makanan, pertanian, pengolahan limbah, kosmetik, dan berbagai bidang bioteknologi. Kelemahan kitin, yaitu tidak mudah larut dalam berbagai jenis pelarut dan reaktivitasnya yang relatif rendah, sehingga penting untuk mengubah kitin menjadi bentuk yang lebih mudah direaksikan dengan air dan pelarut lainnya. Yang *et al.* (2020) menyatakan bahwa kitin sangat kristalin dengan ikatan hidrogen yang kuat karena memiliki struktur linier (1,4)-b-N-asetil glikosaminoglikan dengan dua gugus hidroksil dan gugus asetamida.

Kitosan merupakan senyawa turunan dari kitin (Amalia *et al.*, 2021) yang sudah banyak diaplikasikan di antaranya dalam bidang makanan (Hidayat *et al.*, 2013; Wahyuni *et al.*, 2013; Sari *et al.*, 2020), biolistrik (Ibrahim *et al.*, 2020), *edible coating* (Rochima *et al.*, 2018), pembersih air (Ratnawulan *et al.*, 2018), dan kosmetik (Purwanto *et al.*, 2023). Umumnya kitin diubah menjadi kitosan yang memiliki tingkat kelarutan yang lebih tinggi. Kelarutan kitosan adalah 100% dalam larutan asam lemah (Agustina *et al.*, 2018) sedangkan kitin 28% (Rochima, 2007). El Knidri *et al.* (2018) menyatakan bahwa beberapa pelarut yang telah diverifikasi dapat melarutkan polimer kitin, yaitu N,N-dimetilasetamida yang mengandung 5-8% LiCl, asam dikloro-

dan trikloroasetat, dan metanol yang dijenuhkan dengan kalsium klorida dihidrat, meskipun dianggap beracun, korosif, atau berbahaya. Kitin dapat diubah menjadi kitin serat mikro, kitin serat nano, atau bubuk kitin nanopartikel secara fisik, kimiawi, dan enzimatis untuk meningkatkan kelarutannya dalam berbagai pelarut alami. Naiu (2020) menyatakan bahwa partikel nanokitin dapat meningkatkan kuat tarik film sehingga berpotensi diaplikasikan sebagai bahan aktif dalam pembuatan *edible film*.

Pembuatan partikel nanokitin telah dilakukan oleh beberapa peneliti, di antaranya yaitu Naiu *et al.* (2020) menghidrolisis kitin menggunakan asam klorida (HCl) disertai dengan proses homogenisasi kitin berkecepatan tinggi, Kumar & Bhat (2018) menghidrolisis kitin dengan asam kuat yang diikuti dengan perlakuan ultrasonik, dan Pillai & Sharma (2009) menghidrolisis dengan teknik *electrospinning* untuk menghasilkan serat berukuran nano. Penelitian-penelitian tersebut hanya berfokus pada pengukuran sifat fisik partikel nanokitin, yaitu rendemen, ukuran dan distribusi partikel, tingkat kelarutan, morfologi permukaan, dan gugus fungsi dalam partikel. Lin *et al.* (2014) menjelaskan bahwa nanokitin dapat digunakan sebagai bahan tambahan fungsional atau sebagai *nanofiller* dengan memanfaatkan fitur kimia, morfologi, dan biologi yang melekat pada nanokitin, misalnya muatan kimia dan muatan permukaan, fleksibilitas, dimensi fibril, dan kandungan nitrogen. Huang *et al.* (2018) melaporkan bahwa serat nanokitin dapat berperan sebagai agen penghantar zat antimikroba serta menghambat penguapan minyak atsiri kayu manis yang tidak larut dalam air dan sangat mudah menguap, sehingga dapat memperpanjang aktivitas antibakterinya. Tzoumaki *et al.* (2013) WPI, and sodium caseinate, SCn menyatakan bahwa nanokitin yang tidak larut merupakan enkapsulasi lemak yang sangat baik karena dapat menutupi minyak atsiri yang mengandung senyawa bioaktif. Tinjauan terbaru tentang nanokitin, Bai *et al.* (2022) menyimpulkan bahwa nanokitin memiliki fitur morfologi yang mirip dengan nanopolisakarida lainnya tetapi memiliki

karakteristik kimia yang berbeda. Penelitian terkait nanokitin masih terbatas sehingga informasi mengenai nanokitin masih kurang jika dibandingkan dengan nanoselulosa nabati.

Penelitian mengenai aktivitas antibakterisidal serat nanokitin terhadap *E. coli* dan *P. aeruginosa* telah dilaporkan oleh Nguyen *et al.* (2014), namun pengamatan terhadap aktivitas antibakteri nanokitin yang dihasilkan dari hidrolisis kitin menggunakan variasi volume HCl dalam suasana panas yang disertai dengan homogenisasi kitin berkecepatan tinggi belum dilaporkan. Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji lebih lanjut penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Naiu *et al.* (2020). Hasil penelitian sebelumnya telah diperoleh formula pembuatan kitin berpartikel nano yang menghasilkan partikel berukuran 185,4-319 nm melalui hidrolisis kitin dengan HCl menggunakan perbandingan 1:10, 1:12, dan 1:14. Semakin tinggi volume HCl yang digunakan maka dapat menurunkan kelarutan tingkat partikel. Proses hidrolisis dan homogenisasi kitin menggunakan putaran berkecepatan tinggi telah diteliti memengaruhi ukuran partikel sehingga diduga ikut dapat memengaruhi aktivitas antibakteri dan viskositas partikel nanokitin. Jenis bakteri dalam penelitian ini dipilih untuk mewakili golongan bakteri Gram positif (*S. aureus*) dan bakteri Gram negatif (*E. coli* dan *Salmonella* sp.) serta tingkat kontaminasi dan patogenitas bakteri-bakteri tersebut pada makanan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menentukan perbandingan kitin dan HCl terbaik untuk menghasilkan nanokitin berdasarkan zona hambat bakteri yang maksimum dan viskositas larutan nanokitin.

## BAHAN DAN METODE

### Pembuatan Partikel Nanokitin

Pembuatan partikel nanokitin mengacu pada Naiu *et al.* (2020). Kitin yang diperoleh dari CV Bio Chitosan Indonesia diekstrak dari cangkang/kulit udang dengan spesifikasi kadar air 8,65%, abu 1,53%, berwarna *light brown*, dan tidak berbau. Kitin ditimbang 25 g dan dihidrolisis menggunakan asam HCl 3M (Merck) sesuai perlakuan perbandingan

kitin dan HCl, yaitu A (1:8), B (1:10), dan C (1:12) (b/v) dalam *autoclave* 100°C masing-masing selama 90 menit. HCl kemudian dibuang, endapan dicuci dengan etanol 96% (Pudak Scientific), dan dihancurkan selama 10 menit menggunakan *homogenizer* berkecepatan 22.000 rpm. Endapan dipisahkan menggunakan sentrifus 6.000 rpm selama 30 menit. Supernatan dibuang, dicuci dengan etanol 96%, dan disentrifugasi selama 10 menit. Endapan dinetralkan dengan kristal NaOH (Pudak Scientific) hingga pH netral dan dikeringkan dalam oven 80°C selama 4 jam.

### Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan terhadap 3 jenis bakteri, yaitu *S. aureus*, *E. coli*, dan *Salmonella* sp. menggunakan metode difusi agar. Antibakteri kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif dan akuadestilat sebagai kontrol negatif. Teknik pengujian mengacu pada Magani *et al.* (2020) yaitu melengkapi cawan petri terlebih dahulu dengan pencadangan berisikan media NA 10 mL sebagai lapisan pertama dan dibiarkan hingga mengeras. Media NA berisi bakteri uji dituang 10 mL sebagai lapisan kedua, didiamkan di dalam *laminar air flow* selama dua jam untuk membiarkan media mengeras dan bakteri berdifusi, kemudian pencadang dikeluarkan sehingga diperoleh sumur-sumur yang berdiameter 5 mm. Larutan nanokitin 0,6% dan antibiotik kontrol (kloramfenikol) masing-masing dituang ke dalam sumur sebanyak 200 µL setelah itu dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 3×24 jam. Pengamatan zona bening atau zona hambat dilakukan setiap 24 jam. Perhitungan diameter zona hambat mengikuti prosedur Toy (2015) dengan rumus:

$$\text{Zona hambat} = \frac{(d1-d3)+(d2-d3)}{2}$$

Keterangan:

d1 = Diameter horizontal (mm)

d2 = Diameter vertikal (mm)

d3 = Diameter sumur (±5mm)

### Pengujian Viskositas

Viskositas diukur menggunakan alat *Viscometer Brookfield (DV-S Series, Amerika)*

yang mengacu pada metode yang dilakukan oleh Jakhar *et al.* (2012) yang dimodifikasi. Spindel terlebih dahulu dipanaskan pada suhu 75°C kemudian dipasang ke alat ukur *Viscometer Brookfield*. Posisi spindel dalam larutan panas diatur sampai tepat berada pada posisi tengah larutan. Viskositas larutan sampel dibaca pada alat kemudian dilakukan perhitungan sesuai faktor konversi. Pembacaan dilakukan setelah satu menit putaran penuh sebanyak 2 kali menggunakan spindel nomor 63. Kecepatan alat yang digunakan adalah 12 rpm.

### Analisis Data

Penelitian ini dirancang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data dianalisis sebanyak dua kali ulangan. Data hasil pengamatan dianalisis dengan ANOVA. Perlakuan variasi volume HCl yang memberikan pengaruh diuji lanjut dengan uji BNT. Data diolah menggunakan aplikasi IBM SPSS versi 24.

## HASIL DAN PEMBAHASAN Rendemen Partikel Nanokitin

Prosedur pembuatan nanokitin mengacu pada Naiu *et al.* (2020) yang melaporkan bahwa partikel nanokitin yang dihasilkan dengan cara yang sama tersebut berukuran 185,4-319,3 nm. Jika dibandingkan dengan kitin yang digunakan sebelum dihidrolisis berukuran 0,3 mm (300  $\mu\text{m}$ ) hingga 1 mm (1.000  $\mu\text{m}$ ). Hasil ini menandakan terjadi pengecilan ukuran yang signifikan antara kitin dan nanokitin. Mohanraj & Chen (2006) menyatakan bahwa nanopartikel merupakan partikel padat atau butiran dengan kisaran ukuran 10 hingga 1.000 nm.

Rendemen kitin yang telah diproses melalui tahap hidrolisis dengan variasi volume HCl berbeda, homogenisasi/destruksi, pengeringan, dan penghalusan hingga menjadi berpartikel nano menunjukkan peningkatan rendemen pada perbandingan kitin dan HCl yang lebih besar. Perlakuan perbandingan 1:12 menghasilkan rendemen yang paling tinggi, yaitu  $71,60 \pm 0,46\%$ , perlakuan 1:8 ( $70,44 \pm 0,13\%$ ) dan 1:10 ( $68,64 \pm 0,48\%$ ). Rendemen nanokitin yang dihasilkan

berkaitan dengan banyaknya senyawa kitin yang terhidrolisis akibat penggunaan asam klorida (HCl).

Hasil uji statistik ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan perbandingan kitin dan HCl berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap rendemen nanokitin. Berdasarkan uji BNT, maka perlakuan perbandingan 1:8 dan 1:12 tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ), namun kedua perlakuan ini berbeda nyata dari perlakuan 1:10 ( $p < 0,05$ ). Rendemen nanokitin yang paling rendah pada perlakuan 1:10 diduga karena tingkat kelarutannya yang relatif tinggi.

Naiu *et al.* (2020) melaporkan bahwa kelarutan nanokitin yang diperoleh dari perbandingan kitin dan HCl 1:10, yaitu 71,72% sedangkan pada perbandingan kitin dan HCl 1:12, yaitu 70,73% sehingga diduga pada perlakuan 1:10 lebih banyak terbuang dalam proses pencucian sebelum dilakukan pengeringan. Tingkat kelarutan juga dapat dipengaruhi oleh ukuran partikel. Hasil penelitian Naiu *et al.* (2020) menunjukkan bahwa perlakuan 1:10 memiliki ukuran paling kecil dibandingkan perlakuan lainnya, yaitu 185,4 nm. Menurut Sinala (2016), ukuran partikel berpengaruh terhadap kecepatan kelarutan selain suhu dan pengadukan mekanik. Semakin halus *solute* maka semakin kecil ukuran partikel. Semakin luas permukaan *solute* yang kontak dengan pelarut, *solute* semakin cepat larut. Kelarutan partikel nanokitin juga dipengaruhi oleh monomer-monomer kitin, yaitu N-asetilglukosamin (GlcNac) yang terbentuk akibat putusnya ikatan glikosidik pada kitin karena kehadiran atom H dari HCl selama proses hidrolisis. Chen *et al.* (2010) menyatakan bahwa GlcNac memiliki kelarutan  $>25\%$  dalam air. Herdyastuti & Cahyaningrum (2016) menemukan bahwa GlcNac yang diperoleh dari hidrolisis kitin dengan kitinase dan pemurnian dengan etanol menghasilkan kelarutan 88,4%, sedangkan Naiu *et al.* (2020) memperoleh tingkat kelarutan nanokitin hasil hidrolisis HCl pada kitin 68,92% hingga 71,72%. Tingkat kelarutan juga dipengaruhi oleh derajat asetilasi (DA) kitin. Chatelet *et al.* (2001) melaporkan bahwa derajat asetilasi menunjukkan persentase N-asetilglukosamin (GlcNac) pada biopolimer kitin. Semakin



tinggi DA, semakin stabil senyawa biopolimer bereaksi dengan senyawa lain. Tingkat kelarutan memengaruhi rendemen, sehingga GlcNAc yang dihasilkan penelitian ini, yaitu 68,64-71,60% karena sebagian diduga ikut larut dalam larutan asam yang masih mengandung air.

### Aktivitas Antibakteri Nanokitin

Aktivitas antibakteri nanokitin yang dihasilkan dapat dilihat pada *Table 1*. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan perbandingan kitin terhadap HCl berpengaruh nyata terhadap zona hambat ketiga jenis bakteri uji ( $p < 0,05$ ). Semakin banyak jumlah HCl yang digunakan untuk menghidrolisis kitin maka zona hambat terhadap bakteri *Salmonella* sp. semakin meningkat signifikan ( $p < 0,05$ ) namun sebaliknya terhadap bakteri *S. aureus* agak berkurang ( $p < 0,05$ ). Zona hambat terhadap bakteri *E. coli* hanya terdapat pada nanokitin perlakuan 1:10 dan berbeda nyata dari dua perlakuan lainnya.

Hasil uji zona hambat partikel nanokitin terhadap bakteri uji ditemukan bahwa *Salmonella* lebih resisten pada perlakuan perbandingan 1:8 dan 1:10 dibandingkan perlakuan 1:12 yang berada pada kriteria sedang. Menurut Hudzicki (2009), Kirby dan Bauer telah mengklasifikasikan tingkat ketahanan dan kerentanan bakteri terhadap komponen antibakteri dalam tiga kelompok berdasarkan diameter zona bening, yaitu resisten dengan wilayah hambat  $< 12$  mm, sedang 13-19 mm, dan rentan  $> 20$  mm, meskipun nilai-nilai ini juga relatif berbeda berdasarkan jenis antibakteri. Daya tahan

bakteri *Salmonella* cenderung berkurang pada partikel nanokitin dari perlakuan 1:12 diduga karena nanokitin hasil penelitian ini berukuran partikel lebih besar seiring meningkatnya perbandingan kitin dan HCl yang disebabkan oleh peristiwa aglomerasi atau penumbukan antar nanopartikel. Alias *et al.* (2010) menyatakan bahwa penurunan ukuran kristalit dan partikel menjadi lebih kecil menyebabkan mudah terjadinya aglomerasi. Pembentukan aglomerasi partikel diawali dari partikel-partikel kecil yang saling mendekat dan saling bertubrukan (*transport step*) kemudian saling melekat (*attachment step*) membentuk partikel yang lebih besar. Naitu *et al.* (2020) melaporkan bahwa nanokitin hasil hidrolisis kitin dengan HCl pada perlakuan perbandingan 1:12 berukuran 319,3 nm, lebih besar dari perlakuan 1:10 yang berukuran 185,4 nm. Hal ini sejalan dengan yang ditemukan oleh Jeon *et al.* (2001) bahwa aktivitas antibakteri meningkat efikasinya dengan bertambahnya berat molekul oligomer kitosan. No *et al.* (2002) juga melaporkan bahwa kitosan dengan berat molekul yang lebih besar menghambat pertumbuhan *Salmonella thypi* lebih tinggi. Ukuran partikel nanokitin yang lebih kecil dapat menembus dinding sel bakteri sehingga menyebabkan kerusakan pada dinding sel dan berujung pada kematian bakteri. Jawetz *et al.* (1995) menyatakan bahwa ukuran *Salmonella* berada pada kisaran 700 hingga 1.200 nm yang lebih besar dibandingkan ukuran partikel nanokitin. Penghambatan pertumbuhan bakteri oleh partikel nanokitin kemungkinan juga akibat muatan-muatan positif dalam

Table 1 Bacterial inhibition zone of nanochitin  
Tabel 1 Zona hambat partikel nanokitin terhadap bakteri

Treatment	Inhibition zone of nanochitin on bacteria (mm)		
	<i>Salmonella</i> sp.	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
1:8	7.4±0.20 <sup>a</sup>	8.10±0.59 <sup>b</sup>	0±0.0 <sup>a</sup>
1:10	8.35±0.33 <sup>a</sup>	7.46±0.01 <sup>ab</sup>	8.98±0.21 <sup>b</sup>
1:12	13.27±2.53 <sup>b</sup>	6.67±0.49 <sup>a</sup>	0±0.0 <sup>a</sup>
Control (+), chloramphenicol	25.78	38.54	23.03
Control (-), aquadestilate	0	0	0

Different letter marks on the same column indicate significant differences ( $p < 0,05$ )

partikel berikatan dengan muatan negatif dari protein bakteri sehingga menghambat pertumbuhannya.

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa partikel nanokitin memiliki zona hambat lebih besar terhadap *Salmonella* dibandingkan *S. aureus*. Hal ini dapat terjadi karena struktur *S. aureus* yang tergolong bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang didominasi oleh komponen peptidoglikan yang tersusun atas N-asetil glukosamin dan N-asetil muramat. Kondisi ini menyebabkan partikel nanokitin yang terdiri dari monomer N-asetil glukosamin memiliki ion positif yang sama dengan dinding sel bakteri sehingga tidak saling mengikat. Cooper & Hausman (2007) melaporkan bahwa *Staphylococcus* merupakan bakteri Gram positif yang memiliki selaput plasma tunggal dengan kandungan utama peptidoglikan yang tebal. Hogg (2005) menyatakan bahwa peptidoglikan merupakan polisakarida yang terdiri atas dua gula turunan, yaitu N-asetil glukosamin dan N-asetil glukosamat serta sebuah rantai peptida pendek berupa asam amino L-alanin, D-alanin, asam glutamate dan L-lisin.

Kemampuan partikel nanokitin sebagai agen antibakteri terhadap *S. aureus* semakin kecil seiring bertambahnya perbandingan kitin dan HCl. Hal ini diduga berkaitan dengan ukuran partikel yang dihasilkan akibat jumlah asam yang digunakan untuk menghidrolisis kitin. Berdasarkan penelitian Naiu *et al.* (2020) sebelumnya bahwa semakin banyak jumlah asam penghidrolisis, ukuran partikel nanokitin justru semakin besar yang diduga terjadi karena peristiwa penumbukan antar partikel yang berukuran sangat kecil akibat gaya Van Der Waals dan efek gerak Brown. Peristiwa penumbukan antar partikel atau aglomerasi ini menyebabkan partikel menjadi lebih besar. Semakin besar partikel semakin kecil zona hambat yang dimiliki partikel nanokitin terhadap *S. aureus*. Partikel nanokitin dari perlakuan 1:8 lebih besar zona hambatnya karena diduga memiliki ukuran partikel yang lebih kecil sehingga lebih mudah menembus dinding sel *S. aureus* dan melepaskan ion-ion positif dari asam amino menyebabkan stress oksidatif terhadap DNA

bakteri mengakibatkan kematian sel. Jawetz *et al.* (1995) melaporkan bahwa ukuran sel *S. aureus* berada pada rentang 200 hingga 700 nm. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang diungkapkan oleh Masykuroh & Puspasari (2022) bahwa semakin kecil ukuran partikel perak, semakin tinggi daya hambatnya terhadap bakteri *S. aureus* dengan kategori kuat, yaitu 10,30 hingga 12,63 mm. No *et al.* (2002) melaporkan bahwa kitosan dengan berat molekul yang lebih besar, lebih rendah dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Li *et al.* (2016) juga melaporkan bahwa kitin nanofiber terdeasetilasi dan kitin nanofiber memiliki aktivitas antimikroba yang rendah terhadap *S. aureus*.

Zona hambat *E. coli* hanya teramati pada partikel nanokitin hasil hidrolisis dengan perbandingan kitin: HCl (1:10). Hal ini dapat dipengaruhi oleh partikel nanokitin dari dua perlakuan lain gagal berpenetrasi ke dalam dinding sel bakteri. Kegagalan ini mungkin terjadi karena kemampuan bakteri *E. coli* memproduksi enzim beta-laktamase yang dapat menghidrolisis ikatan amida yang terkandung dalam N-asetil glukosamin (nanokitin) sehingga mengubah struktur dan sifat fungsionalnya sebagai antimikroba. Menurut Sjahrurachman *et al.* (2004), *E. coli* dapat memproduksi enzim beta laktamase yang dapat mengganggu kestabilan aktivitas antimikroba yang dalam strukturnya mengandung ikatan amida dan cincin beta lactam. *E. coli* juga dapat menghasilkan plasmid yang dapat memindahkan gen resisten ke individu bakteri turunannya. Faktor lainnya diduga akibat protein dinding luar (*outer membrane protein*) dari bakteri yang menghambat akses antimikroba ke dalam sel bakteri. Martinez-Martinez (2008) menyatakan bahwa bakteri *E. coli* memiliki saluran membran luar berupa porin berisi air yang dapat menjadi penghalang bagi komponen hidrofil dari agen antimikroba untuk melewati membran sel. Akibatnya porin dapat menjadi salah satu faktor bagi bakteri *E. coli* untuk resisten terhadap antimikroba. Hasil penelitian Endriani *et al.* (2012) melaporkan bahwa *E. coli* merupakan jenis bakteri yang paling banyak menerima terapi

antibakteri sehingga telah memiliki resistensi hingga 100% pada beberapa jenis antibiotika, misalnya *Penicilin*, *Streptomisin*, *Clindamisin*, dan asam pipemidat. Aktivitas antimikroba hasil penelitian perlakuan 1:8 dan 1:10 ini hampir serupa dengan yang dilaporkan oleh Li *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa lapisan film yang diinkorporasi dengan kitin nanofiber hanya menunjukkan aktivitas antibakteri yang sangat rendah terhadap *E. coli* dengan lebar zona hambat hanya 0,2 mm. Nguyen *et al.* (2014) juga melaporkan tidak menemukan adanya zona hambat dari lembaran kitin nanofiber terhadap *E. coli*. Nanokitin perlakuan 1:10 menunjukkan aktivitas antimikroba yang setara dengan yang diperoleh Natriawan *et al.* (2021) pada film komposit nanopartikel perak dan kitosan dengan perbandingan 1,5:0,5, yaitu 8,8 nm.

### Viskositas Nanokitin

Viskositas merupakan daya alir dari suatu larutan. Semakin tinggi nilai viskositas menunjukkan kekentalan suatu larutan yang semakin pekat yang menandakan bahwa tahanan cairan semakin tinggi. Viskositas partikel nanokitin hasil hidrolisis kitin dengan volume asam klorida berbeda dapat dilihat pada *Figure 2*.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perbedaan volume HCl dalam menghidrolisis kitin tidak memberikan pengaruh nyata ( $p > 0,05$ ) terhadap viskositas nanokitin, meskipun tampak meningkat

seiring kenaikan jumlah HCl. Hal ini mungkin terjadi karena konsentrasi HCl yang digunakan sebagai senyawa penghidrolisis kitin adalah sama pada semua taraf perlakuan, yaitu 3 M dan perbedaan volume asam tidak cukup untuk membedakan nilai viskositas larutan partikel. Viskositas larutan partikel nanokitin terbentuk akibat adanya interaksi dan ikatan silang antara nanokitin yang berpotensi membentuk gel. Hal ini senada dengan yang diungkapkan oleh Liao & Huang (2022) bahwa gugus  $-COO^-$  pada rantai molekul nano kitin akan diubah menjadi  $-COOH$  pada kondisi asam sehingga mengurangi muatan negatif nano kitin. Melemahnya tolakan elektrostatis mengarah pada agregasi nanokitin yang meningkatkan interaksi antara molekul kitin, sehingga mencapai gelasi nano kitin melalui peningkatan ikatan silang ikatan hidrogen antarmolekul. Jika dibandingkan dengan viskositas kitin standar yang dilaporkan oleh Bajaj *et al.* (2011) yang hanya sebesar 3,45 mPa.s, maka setelah dihidrolisis menjadi nanokitin dalam penelitian ini menunjukkan peningkatan yang signifikan mencapai 6,73 cPs atau 6,73 mPa.s.

Zewude *et al.* (2021) menjelaskan bahwa serat nano mengandung muatan permukaan kationik dalam kondisi asam. Hal ini disebabkan oleh protonasi gugus amino ( $-NH_3^+$ ) pada permukaan serat nano. Gaya tolak elektrostatis antara serat nano dengan muatan permukaan kationik berkontribusi pada stabilitas dispersi partikel dalam air

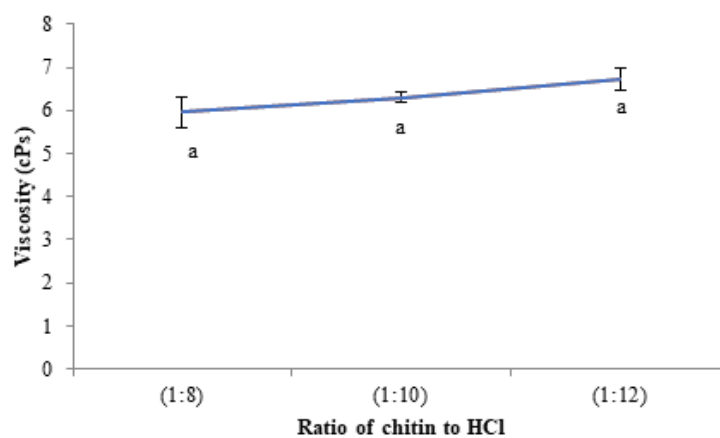


Figure 2 Viscosity of nanochitin solution

Gambar 2 Viskositas larutan nanokitin

yang pada gilirannya berpengaruh terhadap ketahanan daya alir larutan atau viskositas. Liao & Huang (2022) menyatakan bahwa stabilitas dispersi nanokitin sangat berperan dalam aplikasi pembentukan gel karena dapat membentuk struktur jaringan gel yang seragam. Ukuran partikel yang seragam berkontribusi dalam dispersi yang merata. Ukuran partikel yang seragam ini dicerminkan dari indeks polidispersitas (IP) yang rendah. Prosedur pembuatan nanokitin yang mengacu pada Naiu *et al.* (2020) diduga menghasilkan ukuran nanokitin dengan IP relatif rendah, yaitu 0,3. Hal ini menunjukkan bahwa partikel nanokitin dalam larutan terdispersi secara seragam yang mencerminkan nilai viskositas ideal.

Nurahmanto *et al.* (2016) mengaitkan hubungan viskositas dan aktivitas antibakteri dalam suatu sediaan dan menyatakan bahwa sediaan dengan viskositas tinggi memiliki daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* dan *Bacillus subtilis* yang lebih besar dibandingkan dengan viskositas rendah seperti dalam bentuk *spray*. Baizuroh *et al.* (2020) juga melaporkan bahwa larutan pembersih dari ekstrak daun kunyit dengan viskositas paling tinggi memiliki zona hambat terhadap bakteri *E. coli* lebih besar. Namun hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai viskositas cenderung meningkat seiring meningkatnya volume asam penghidrolisis kitin dan tidak menyebabkan peningkatan zona hambat terhadap semua jenis bakteri yang diuji (*Figure 2* dan *Table 1*). Berdasarkan data hasil pengujian, semakin tinggi viskositas larutan nanokitin, maka aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella sp.* juga semakin tinggi yang ditandai dengan zona hambat yang semakin besar, namun tidak sama terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Hal ini mungkin dipengaruhi oleh perbedaan sifat bakteri uji, di antaranya ukuran bakteri dan komposisi senyawa penyusun dinding sel bakteri. Oleh sebab itu, perlu dipelajari lebih lanjut nilai viskositas optimum dari larutan nanokitin dalam menghambat pertumbuhan dan perkembangan mikroba.

## KESIMPULAN

Perlakuan rasio kitin terhadap HCl 1:8 merupakan perlakuan terbaik dengan

rendemen yang paling tinggi dan berpotensi dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella sp.*, *S. aureus*, meskipun nilai viskositasnya tidak berbeda dari perlakuan 1:10 dan 1:12.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Negeri Gorontalo (LPPM-UNG) yang telah mendanai penelitian ini melalui anggaran Pendapatan Negara Bukan Pajak (PNBP) tahun 2023 berdasarkan SK Rektor UNG Nomor 495/UN 47/HK.02/2023 atas nama Dr. Asri Silvana Naiu, S.Pi., M.Si. (Nomor urut 24).

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, S., Swantara, I. M. D., & Suartha, I. N. (2018). Isolasi kitin, karakterisasi, dan sintesis kitosan dari kulit udang. *Jurnal Kimia*, 9(2), 271–278. <https://doi.org/10.24843/JCHEM.2015.v09.i02.p19>
- Alias, S., Ismail, A., & Muhammad, A. (2010). Effect of pH on ZnO nanoparticle properties synthesized by sol-gel centrifugation. *Journal of Alloys and Compound*, 499(2), 231–237. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2010.03.174>
- Amalia, K. P., Ekayani, M., & Nurjanah. (2021). Pemetaan dan alternatif pemanfaatan limbah cangkang rajungan di Indonesia. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(3), 310–318. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v24i3.37436>
- Bai, L., Liu, L., Esquivel, M., Tardy, B. L., Huan, S., Niu, X., Liu, S., Yang, G., Fan, Y., & Rojas, O. J. (2022). Nanochitin: chemistry, structure, assembly, and applications. *Chemical Reviews*, 122(13), 11604–11674. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.2c00125>
- Baizuroh, N., Yahdi, Y., & Dewi, Y. K. (2020). Uji kualitas *hand sanitizer* ekstrak daun kunyit (*Curcuma longa* Linn). *Al-Kimiya*, 7(2), 88–94. <https://doi.org/10.15575/ak.v7i2.8744>
- Bajaj, M., Winter, J., & Gallert, C. (2011). Effect of deproteination and deacetylation conditions on viscosity of chitin and chitosan extracted from *Crangon crangon* shrimp waste. *Biochemical Engineering*



- Journal*, 56(1–2), 51–62. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2011.05.006>
- Chatelet, C., Damour, O., & Domard, A. (2001). Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films. *Biomaterials*, 22(3), 261–268. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00183-6](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00183-6)
- Chen, J. K., Shen, C. R., & Liu, C. L. (2010). N-Acetylglucosamine: production and application. *Marine Drugs*, 8(9), 2493–2516. <https://doi.org/10.3390/md8092493>
- Cooper, G., & Hausman R. E. (2007). *The Cell: A molecular approach* (4 th edition). Sinauer Associates, Inc.
- El Knidri, H., Belaabed, R., Addaou, A., Laajeb, A., & Lahsini, A. (2018). Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120 (Part A), 1181–1189. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.139>
- Endriani, R., Andriani, F., & Alfina, D. (2012). Pola resistensi bakteri penyebab infeksi saluran kemih (ISK) terhadap antibakteri di Pekanbaru. *Jurnal Natur Indonesia*, 12(2), 130-135. <https://doi.org/10.31258/jnat.12.2.130-135>
- Herdyausti, N., & Cahyaningrum, S. E. (2016). Mempelajari karakteristik senyawa n-asetil pada proses hidrolisis kitin menggunakan enzim kitinase dari *Pseudomonas* sp TNH 54. [Laporan Penelitian Fundamental]. Universitas Negeri Surabaya.
- Hidayat, T., Suptijah, P., & Nurjanah. (2013). Karakterisasi tepung buah lindur (*Brugeira gymnorrhiza*) sebagai beras analog dengan penambahan sagu dan kitosan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 16(3), 268-277. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v16i3.8065>
- Hogg, S. (2005). *Essential microbiology*. John Wiley & Sons Ltd.
- Huang, Y., Liu, H., Liu, S., & Li, S. (2020). *Cinnamon cassia* oil emulsions stabilized by chitin nanofibrils: physicochemical properties and antibacterial activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(49), 14620–14631. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03971>
- Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. American Society for Microbiology.
- Ibrahim, B., Uju., & Soleh, A. M. (2020). Kinerja membran komposit kitosan-karagenan pada *system microbial fuel cell* dalam menghasilkan biolistrik dari limbah pemindangan ikan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(1), 137-146. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i1.31056>
- Jakhar, J. K., Reddy, A. D., & Maharia, S. (2012). Characterization of fish gelatin from blackspotted croaker (*Protonibea diacanthus*). *Archives of Applied Science Research*, 4(3), 1353–1358.
- Jawetz, E., Melnick, J., & Adelberg, E. (1995). *Medical microbiology* (20 th). Appleton & Lange.
- Jeon, Y., Park, P., & Kim, S. (2001). Antimicrobial effect of chitooligosaccharides produced by bioreactor. *Carbohydrate Polymers*, 44(1), 71–76.
- Kaya, M., Tozak, K., Baran, T., Sezen, G., & Sargin, I. (2013). Natural porous and nano fiber chitin structure from *Gammarus argaeus*. *EXCLI Journal*, 2013(12), 503–510.
- Kumar, G. N. P., & Bhat, S. K. (2018). Preparation of chitin nano whiskers from mushrooms. *International Journal of Scientific and Research Publications (IJSRP)*, 8(8), 130–137. <https://doi.org/10.29322/ij srp.8.8.2018.p8017>
- Li, M. C., Wu, Q., Song, K., Cheng, H. N., Suzuki, S., & Lei, T. (2016). Chitin nanofibers as reinforcing and antimicrobial agents in carboxymethyl cellulose films: influence of partial deacetylation. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 4(8), 4385–4395. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b00981>
- Liao, J., & Huang, H. (2022). Preparation, characterization and gelation of a fungal nano chitin derived from *Hericium erinaceus* residue. *Polymers*, 14(3), 474-486. <https://doi.org/10.3390/polym14030474>

- Lin, N., Wei, S., Xia, T., Hu, F., Huang, J., & Dufresn, A. (2014). Green bionanocomposites from high-elasticity “soft” polyurethane and high-crystallinity “rigid” chitin nanocrystals with controlled surface acetylation. *Royal Society Chemistry Adv*, 2014(00), 2–11. <https://doi.org/10.1039/C4RA07899C>
- Magani, A. K., Tallei, T. E., & Kolondam, B. J. (2020). Uji antibakteri nanopartikel kitosan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Bios Logos*, 10(1), 7-12. <https://doi.org/10.35799/jbl.10.1.2020.27978>
- Martinez-Martinez, L. (2008). Extended-spectrum beta-lactamases and the permeability barrier. *Clinical Microbiology and Infection*, 14(Supplement 1), 82–89. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01860.x>
- Masykuroh, A., & Puspasari, H. (2022). Aktivitas antibakteri nano partikel perak (npp) biosintesis menggunakan ekstrak keladi serawak *Alocasia macrorrhizos* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*, 7(1), 76–85. <https://doi.org/10.20956/bioma.v7i1.19350>
- Mohanraj, U., & Chen, Y. (2006). Nanoparticles- A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5(1), 561–573.
- Naiu, A. S. (2020). *Edible film* berbasis nanokitin dan nanokaragenan serta aplikasinya pada udang rebus tanpa kulit [Disertasi]. Universitas Sam Ratulangi.
- Naiu, A. S., Berhimpon, S., Iwan Montolalu, R., Kawung, N. J., & Suptijah, P. (2020). The effect of HCl-thermal pressure hydrolysis and high-speed destruction of chitin on particle size distribution and functional group of nano-chitin compound. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 8(1), 197–205. <https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.8.1.18>
- Natalia, D. A., Dharmayanti, N., & Dewi, F. R. (2021). Produksi kitosan dari cangkang rajungan (*Portunus* sp.) pada suhu ruang. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(3), 301-309. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v24i3.36635>
- Nguyen, V. Q., Ishihara, M., Kinoda, J., Hattori, H., Nakamura, S., Ono, T., Miyahira, Y., & Matsui, T. (2014). Development of antimicrobial biomaterials produced from chitin-nanofiber sheet/silver nanoparticle composites. *Journal of Nanobiotechnology*, 12(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12951-014-0049-1>
- No, H. K., Young Park, N., Ho Lee, S., & Meyers, S. P. (2002). Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *International Journal of Food Microbiology*, 74(1–2), 65–72. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00717-6](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00717-6)
- Notriawan, D., Nesbah, N., Ernis, G., Fadhila, M. A., Wibowo, R. H., Pertiwi, R., & Ilfanisari, V. (2021). Aktivitas antibakteri membran nanokomposit kitosan/nanopartikel perak. *Alchemy*, 9(1), 26–31. <https://doi.org/10.18860/al.v9i1.111146>
- Nurahmanto, D., Tanjaya, E., Arizka, H. E., & Hasanah, S. U. (2016). Perbandingan aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* L) sediaan gel dan spray antiseptik. Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development. *Prosiding Farmasi Universitas Jember*, 63–72.
- Pillai, C., & Sharma, C. (2009). Electrospinning of chitin and chitosan nanofibres. *Trends Biomater Artif. Organs*, 22(3), 179–201.
- Purwanto, U. M. S., Vachyra, D. A., & Andrianto, D. (2023). Keamanan krim antijerawat dengan penambahan kitosan cangkang kerang bulu. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 26(2), 241-250. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v26i2.44125>
- Ratnawulan, A., Noor, E., & Suptijah, P. (2018). Pemanfaatan kitosan dalam daur ulang air sebagai aplikasi teknik produksi bersih. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(2), 276-286. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v21i2.23044>
- Rochima, E. (2007). Karakterisasi kitin dan kitosan asal limbah rajungan Cirebon Jawa Barat. *Jurnal Pengolahan Hasil*

- Perikanan Indonesia*, 10(1), 9–22. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v10i1.965>
- Rochima, E., Fiyanih, E., Afrianto, E., Joni, I. M., Subhan, U., & Panatarani, C. (2018). Efek penambahan suspensi nanokitosan pada *edible coating* terhadap aktivitas antibakteri. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(1), 127-136. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v21i1.21461>
- Sari, S. R., Baehaki, A., Lestari, S. D., Arafah, E., & Guttifera. (2020). Aktivitas antibakteri kitosan mono-sakarida kompleks sebagai penghambat bakteri patogen pada olahan produk perikanan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(3), 542-547.
- Sinala, S. (2016). Farmasi Fisik. Pusdik SDM Kesehatan.
- Sjahrurachman, A., Mirawati, T., Ikaningsih, & Warsa, U. (2004). Etiologi dan resistensi bakteri penyebab infeksi saluran kemih di RSCM dan RS MMC Jakarta 2001-2003. PT. Grafiti Medika Pers.
- Toy. (2015). Uji daya hambat ekstrak rumput laut *Gracilaria* sp terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal E-Gigi*, 3(1), 153–159. <https://doi.org/10.35790/eg.3.1.2015.6600>
- Tzoumaki, M. V., Moschakis, T., Scholten, E., & Biliaderis, C. G. (2013). In vitro lipid digestion of chitin nanocrystal stabilized o/w emulsions. *Food and Function*, 4(1), 121–129. <https://doi.org/10.1039/c2fo30129f>
- Wahyuni, S., Khaeruni, A., & Hartini. (2013). Kitosan cangkang udang windu sebagai pengawet *fillet* ikan gabus (*Channa striata*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 16(3), 233-241. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v16i3.8061>
- Xu, Y., Gallert, C., & Winter, J. (2008). Chitin purification from shrimp wastes by microbial deproteination and decalcification. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 79(4), 687–697. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1471-9>
- Yang, X., Liu, J., Pei, Y., Zheng, X., & Tang, K. (2020). Recent progress in preparation and application of nano-chitin materials. *Energy and Environmental Materials*, 3(4), 492–515. <https://doi.org/10.1002/eem2.12079>
- Zewude, D. A., Izawa, H., & Ifuku, S. (2021). Optimum preparation conditions for highly individualized chitin nanofibers using ultrasonic generator. *Polymers*, 13(15), 2501-2510. <https://doi.org/10.3390/polym13152501>