

Deskripsi Karakteristik Fungsional dan Aplikasi Kitin Kitosan

(Description of Functional Characteristic and Application of Chitin and Chitosan)

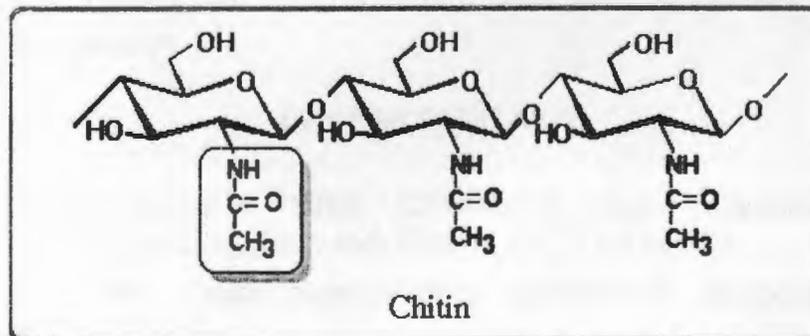
PIPIH SUPTIJAH¹⁾

¹⁾ Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB, Kampus IPB Darmaga Bogor

Keywords: *application, chitin, chitosan, functional characteristic*

DESKRIPSI KITIN DAN KITOSAN

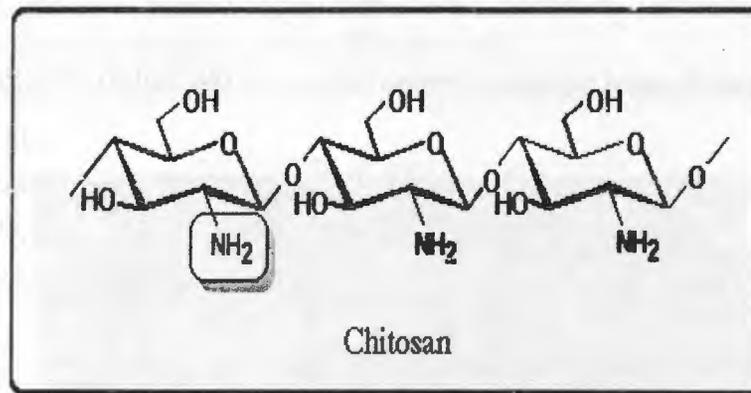
Kitin adalah polimer alami berupa selulosa beramin dan berasetil (N-asetil glukosamin) yang jumlahnya cukup berlimpah di alam, merupakan senyawa ke dua terbesar setelah selulosa. Dikenal juga sebagai polimer organik konvensional dari laut. Banyak terdapat pada rangka/skeleton, khususnya pada kulit udang, kepiting, rajungan (krustasea) dan juga terdapat pada dinding sel bakteri dan fungi. Kitin tidak larut dalam air, asam, basa dan pelarut organik tetapi larut dalam asam sulfat pekat panas dan asam format anhidrid (Muzarelli, 1977). Struktur kimia Kitin dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur kimia kitin.

Kitosan adalah turunan dari chitin dengan rumus N-asetil-D-Glukosamin, merupakan polimer kationik yang mempunyai jumlah monomer sekitar 2000-3000 monomer, tidak toksik dengan LD50 = 16 g/kg BB dan mempunyai BM sekitar 800 Kda. Kitosan dapat berinteraksi

dengan bahan-bahan yang bermuatan seperti protein, polisakarida anionik, asam lemak, asam empedu dan fosfolipid. Kitosan mempunyai karakteristik fisik, biologi dan kimiawi yang baik diantaranya dapat didegradasi, dapat diperbaharui dan tidak toksik. Mengingat sifat-sifatnya yang baik itulah, maka dalam 20 tahun terakhir kitosan menjadi perhatian yang besar dari para peneliti. Struktur kimia Kitosan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur kimia kitosan.

KARAKTERISTIK FUNGSIONAL

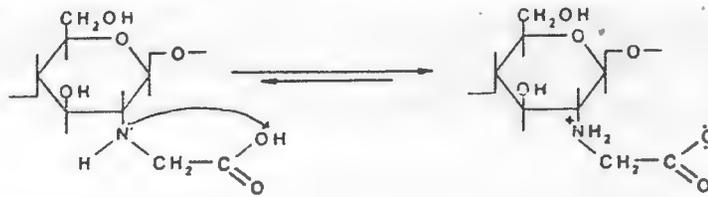
Kitosan dapat dikelompokkan berdasarkan BM dan kelarutannya (Janesh, 2003), yaitu:

- kitosan larut asam dengan BM 800.000 Dalton sampai 1.000.000 Dalton,
- kitosan mikrokristalin (larut air) dengan BM sekitar 150.000 Dalton,
- kitosan nanopartikel (larut air) dengan BM 23.000 Dalton sampai 70.000 Dalton, dapat berfungsi sebagai imunomodulator.

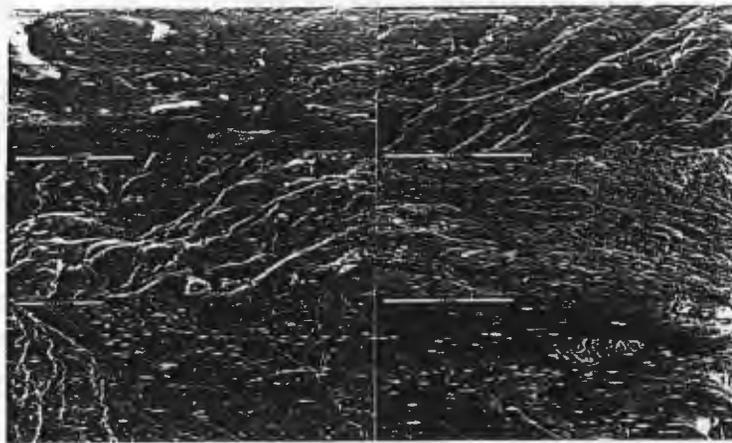
Kitosan mempunyai bentuk kristal rombig dengan struktur saling silang antar bentuk alfa, beta dan gamma, membentuk suatu matriks seperti resin sehingga cocok digunakan sebagai absorben atau agen amobilisasi. Senyawa tersebut dapat dipadukan dengan komponen lain sehingga membentuk campuran yang mempunyai kemampuan mengabsorpsi lebih kuat dan digunakan dalam absorpsi logam berat (Kawamura, 1993).

Kitosan larut asam dan larut air mempunyai keunikan membentuk gel yang stabil dan mempunyai muatan dwi kutub, yaitu muatan negatif pada gugus karboksilat dan muatan positif pada gugus NH, contoh mekanisme ionisasi kitosan dalam asam asetat dapat dilihat pada Gambar

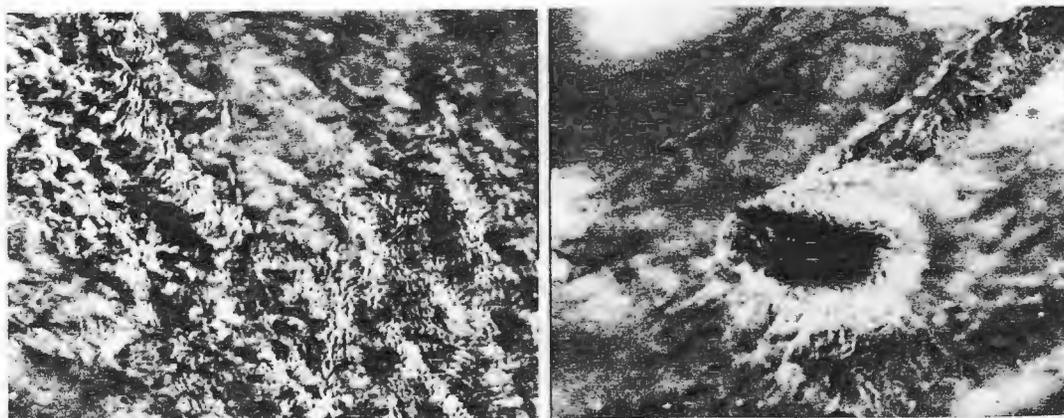
3, sedangkan pada Gambar 4 dan 5 disajikan berturut-turut hasil scanning gel, kristal dan pori-pori kitosan (Kumar, 2000).



Gambar 3. Mekanisme pembentukan ion dwi kutub kitosan.



Gambar 4. Contoh hasil scanning gel kitosan.



(a)

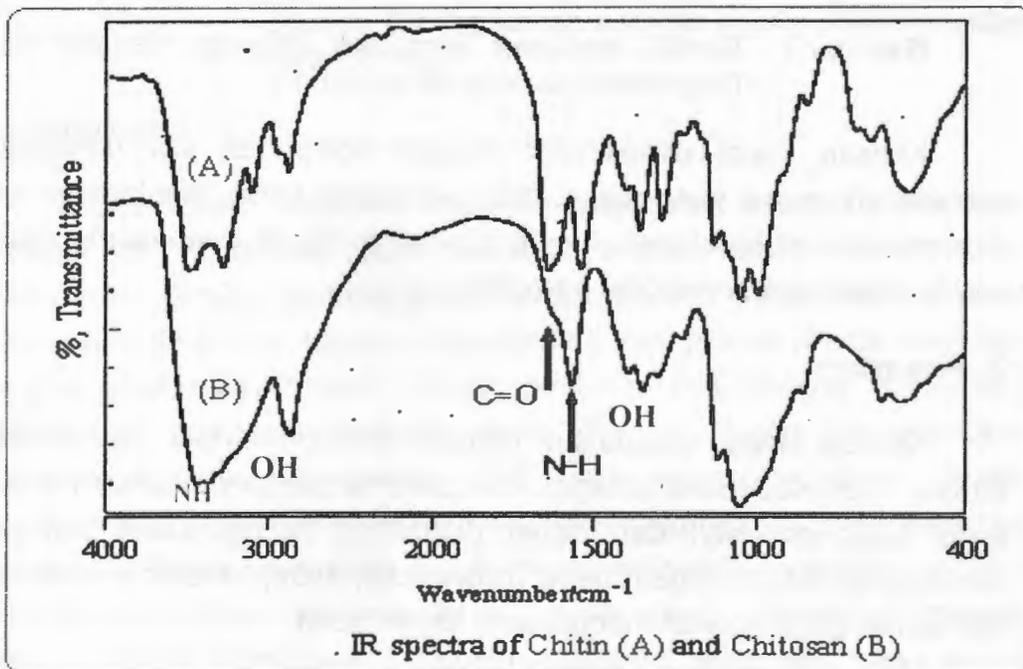
(b)

Gambar 5. Contoh gambar hasil scanning kristal kitosan (a), hasil scanning pori-pori kitosan (b).

Mengingat chitosan mempunyai gugus amin/ NH yang reaktif dan gugus hidroksil yang banyak serta kemampuannya membentuk gel maka chitosan dapat berperan sebagai komponen reaktif, pengkelat, pengikat, pengabsorpsi, penstabil, pembentuk film, penjernih, flokulan, koagulan (Shahidi, 1999). Dengan gugus fungsi yang unik itulah chitosan dapat diaplikasikan di bidang-bidang kesehatan, kosmetik, farmasi, pangan/pakan, pengolahan limbah, tekstil, kertas, dan lain-lain.

Hasil analisis spektrofotometer FT-IR chitosan mempunyai gugus-gugus fungsional sebagai berikut (Gambar 6):

- pada bilangan gelombang 3352,2932, 2890 cm^{-1} adalah gugus OH, -CH₂, CH₃;
- pada panjang gelombang 1700, 1565, 1414 cm^{-1} adalah gugus C=O, NH, OH;
- pada panjang gelombang 3400, 3300 cm^{-1} adalah gugus amino dan OH.

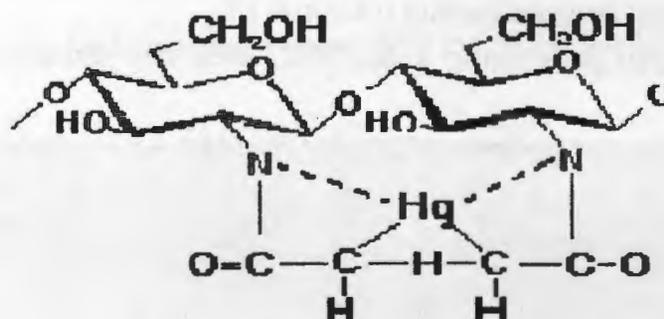


Gambar 6. Spektrum infra merah kitin (A) dan kitosan (B) (<http://www.dalwoochitosan.com>).

APLIKASI KITOSAN

1. Pengkelat

Kitosan sebagai pengkelat berarti membentuk kompleks dengan logam atau dengan komponen lain yang bermuatan berlawanan. Bentuk senyawa kompleks chitosan dengan logam dapat dilihat pada Gambar 7.

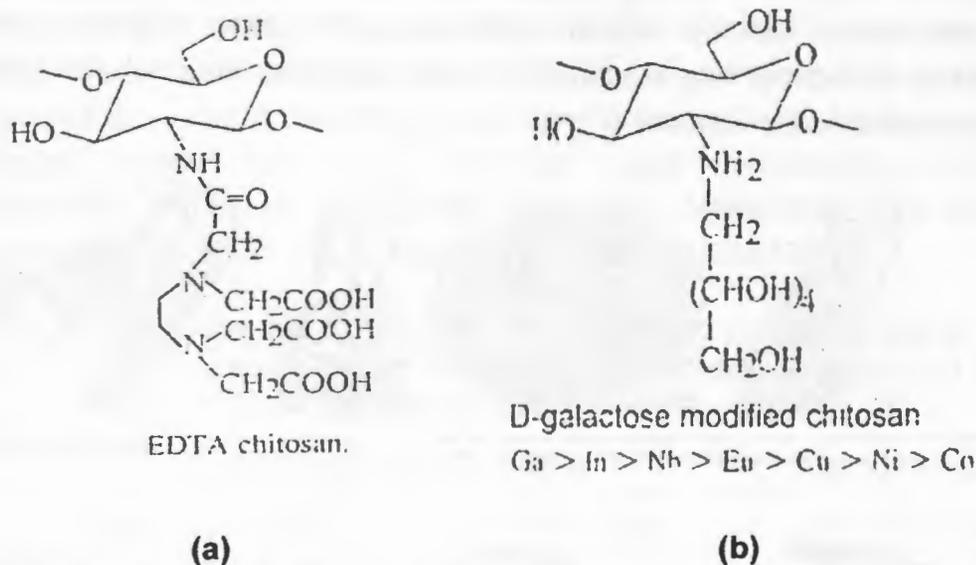


Gambar 7. Bentuk senyawa kompleks chitosan dengan logam (<http://www.dalwoochitosan.com>).

Kitosan dapat dimodifikasi dengan komponen lain (kompatibel) membentuk gugus yang reaktif terhadap logam berat, diantaranya dapat dibentuk kompleks dengan logam Cu yang dapat digunakan sebagai katalis dalam reaksi oksidasi adrenalin.

2. Absorben

Kitosan dapat dipadukan dengan komponen lain menghasilkan Kitosan Graft Kopolimer sebagai resin poliamin yang mempunyai porositas tinggi (*high porosity*) dan dapat digunakan sebagai absorben pada penanganan limbah logam berat (Kawamura, 1993). Gambar 8 menyajikan kemampuan kitosan mengabsorb logam berat



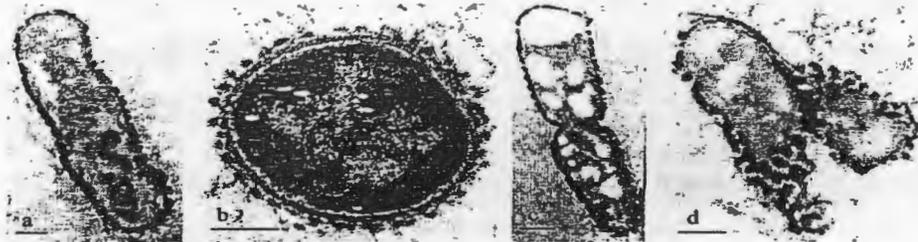
Gambar 8. Kitosan dimodifikasi dengan komponen EDTA membentuk matriks yang reaktif terhadap logam berat (a), kitosan-cyclodekstrin dapat membentuk kompleks dengan Cu digunakan sebagai katalis dalam oksidasi adrenalin (b).

3. Antibakteri

Kitosan dapat digunakan sebagai antibakteri dengan mekanisme sebagai berikut: kitosan dapat berikatan dengan protein membran sel, diantaranya dengan glutamat yang merupakan komponen membran sel. Misalnya pada *S. aureus* dan *Enterobacteri aerugenosa*. Selain berikatan dengan protein membraner, kitosan berikatan pula dengan fosfolipid membraner, terutama fosfatidil kolin (PC) sehingga menyebabkan permeabilitas inner membran (IM) jadi meningkat dan dengan meningkatnya permeabilitas IM memberi jalan yang mudah untuk keluarnya cairan sel. Khususnya pada *E.coli* setelah 60 menit komponen enzim β galaktosidase dapat terlepas, berarti dapat keluar dengan sitoplasma bahkan sambil membawa komponen metabolit yang lain, yang berarti terjadi lisis. Sehubungan dengan meningkatnya lisis maka tidak akan terjadi pembelahan sel (regenerasi), bahkan dapat sampai mati (Simpson 1997).

Tsai dan Su (1999) melaporkan bahwa kitosan dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Adanya penghambatan ini disebabkan oleh adanya keelektronegatifan permukaan sel *E. coli*. Gilbert *et al.*, diacu dalam Tsai dan Su (1999) menemukan perubahan dalam potensial permukaan *E. coli* selama pertumbuhan, yaitu terjadinya peningkatan

keelektronegatifan seiring dengan peningkatan umur sel, yaitu sampai pertumbuhan lambat, namun keelektronegatifan akan menurun setelah bakteri mencapai fase stasioner. Mekanisme perusakan sel oleh kitosan dipaparkan pada Gambar 9.



Transmission electron microphotographs of *E. coli* cells after treatment with the 0.5% chitosan acetate solution for 20 min. Bar = 200 nm

H. Liu et al. / International Journal of Food Microbiology XX (2004) xxx-xxx



Transmission electron microphotographs of *S. aureus* cells after treatment with the 0.5% chitosan acetate solution for 20 min. Bar = 200 nm.

Gambar 9. Mekanisme perusakan sel oleh kitosan.

Hasil penelitian Tsai dan Su (1999) menunjukkan adanya peningkatan aktivitas antibakteri pada suhu yang lebih tinggi (25 dan 37 °C) dan pH yang lebih asam. Hal ini disebabkan karena pada suhu tinggi terjadi perubahan struktur permukaan sel yaitu penurunan jumlah permukaan sisi yang terikat (keelektronegatifan) terhadap kitosan. Sementara itu peningkatan aktivitas antibakteri pada pH asam disebabkan karena grup amin pada posisi C2 pada posisi glukosamin akan diprotonasi, Kondisi ini akan menghasilkan interaksi yang disukai dengan residu negatif pada permukaan sel.

Adanya ion Na^+ menurunkan aktivitas antibakteri, hal ini disebabkan karena terjadinya kompleks antara ion dengan kitosan sehingga menurunkan pengikatan kitosan terhadap permukaan sel. Kitosan mengikat secara kuat berbagai logam kation, seperti Cu^{2+} , yang mana ini melibatkan

kelompok $-OH$ dan $-NH_2$ pada residu glukosamin sebagai ligan. Mengingat grup $-NH_2$ merupakan sisi yang kritis untuk pengikatan kitosan dengan sel, maka kompleks kitosan dengan Na^+ menyebabkan kompleks tersebut tidak dapat berikatan dengan permukaan sel. Keberadaan ion divalent seperti Ba^{2+} , Ca^{2+} , dan Mg^{2+} juga menurunkan aktivitas antibakteri, dimana $Ba^{2+} > Ca^{2+} > Mg^{2+}$ (Tabel 1). Mekanisme yang terjadi hampir sama dengan keberadaan ion Na^+ Tsai dan Su (1999).

Tabel 1. Aktivitas antibakteri dari kitosan (150 ppm) terhadap *E. coli* yang disuspensikan dalam 5 mM buffer fosfat (pH 6,0) dengan penambahan garam-garam.

Garam	Jumlah bakteri (\log_{10} CFU/ml)						Aktivitas kitosan (%) ^a		
	Konsentrasi garam			Konsentrasi garam			Konsentrasi garam		
	0 mM	10 mM	25 mM	0 mM	10 mM	25 mM	0 mM	10 mM	25 mM
MgCl ₂	7,7	7,7	7,7	2,6	3,1	3,2	66,2	59,7	58,4
BaCl ₂	7,7	7,6	7,4	2,6	4,0	5,3	66,2	47,4	28,4
CaCl ₂	7,7	7,6	7,4	2,6	3,4	3,5	66,2	55,3	52,7
NaCl	7,7	7,6	7,6	2,6	2,7	3,9	66,2	64,5	48,7

Sumber: Tsai dan Su (1999)

^aAktivitas kitosan (%) = (perbedaan antara log cfu tanpa kitosan dan dengan kitosan dalam buffer garam yang sama)/(log CFU tanpa kitosan dalam buffer garam yang sama) x 100%

Kitosan mampu memutus atau memecah enzim glukosa dan laktat dehidrogenase *Escherichia coli*. Ini berarti bahwa mekanisme aksi antibakterial kitosan melibatkan *cross-linkage* antara polikation kitosan dan anion pada permukaan bakteri yaitu mengubah permeabilitas membran.

Roller dan Covill (2000) melaporkan bahwa kitosan berpotensi sebagai pengawet alami dalam mayonnaise dan *mayonnaise-based shrimp salad*. *Mayonaise* yang mengandung 3 g/liter kitosan yang dikombinasikan dengan asam asetat 0,16 % atau *juice* lemon 1,2 dan 2,6 % diinokulasikan oleh log 5 sampai 6 CFU/g *Salmonella enteritidis*, *Zygosaccharomyces bailii*, atau *Lactobacillus fructivorans*, kemudian disimpan pada suhu 5 dan 25 °C selama 8 hari. Di dalam mayonnaise yang mengandung kitosan dan 0,16 % asam asetat, sebanyak 5 log CFU/g *L. fructivorans* tidak aktif. Sementara itu jumlah *Z. bailii* mengalami penurunan kira-kira 1-2 log CFU/g setelah inkubasi pada suhu 25 °C. Di dalam *mayonnaise* yang mengandung 1,2 dan 2,6 %, tidak terdapat perbedaan antara kontrol dengan sampel yang mengandung kitosan.

Dalam salad udang yang disimpan pada suhu 5 °C, adanya kitosan (9 mg/g udang) menghambat pertumbuhan flora pembusuk dari kira-kira 8 CFU/g dalam kontrol menjadi 4 CFU/g setelah penyimpanan 4 minggu. Hasil ini menunjukkan bahwa kitosan mungkin dapat digunakan sebagai pengawet bila dikombinasikan dengan asam asetat dan disimpan pada suhu *chilling* pada makanan tertentu.

4. Antifungi

Interaksi antara kitosan dengan jamur patogen menunjukkan bahwa kitosan dapat menahan pertumbuhan jamur dengan cara pengikatan DNA inangnya dan pengrusakan membran biologisnya menyebabkan kitosan dapat dijadikan agen antifungi yang potensial (Simpson, 1997).

Aspergillus niger dan *Aspergillus parasitikus* dapat dihambat pertumbuhannya oleh kitosan. Disamping itu kitosan menunjukkan aktifitas bakteri melawan *Corynebacterium michigenensis*, *Micrococcus luteus* dan *Staphylococcus aureus* tapi tidak untuk *Bacillus aureus*, *Erwinia Spp* dan *Klebsiella pneumonia* (Wang, 1992).

Huang *et al.* (2000) melaporkan kitin yang berikatan dengan peptida yang bersifat sebagai antifungi dari daun *Ginkgo biloba*, disimbolkan dengan GAFP, telah diisolasi. Berat molekul dari peptida tersebut adalah 4244 Da yang ditentukan oleh spektrofotometri massa. Aktivitas antifungi GAFP ditentukan terhadap 5 jamur yang bersifat sebagai patogen tanaman. Kelima fungi tersebut adalah *Pellicularia sasakii* Ito, *Alternaria alternata* (Fries) Keissler, *Fusarium graminearum* Schw., *Fusarium moniliforme* dan *Phytophthora boehmeriae*. GAFP menunjukkan aktivitas antifungi paling potensial terhadap *P. sasakii* Ito dengan konsentrasi penambahan paling sedikit 100 ng GAFP per cawan. GAFP juga menghambat fungi patogen lainnya seperti *A. alternata* (Fries.) Keissler, *F. graminearum* Schw, dan *F. moniliforme*. GAFP tidak efektif menghambat fungi *P. boechmeriae* dengan konsentrasi 15 µg per cawan. Prosentasi penghambatan GAFP terhadap *P. sasakii* Ito dapat dilihat pada Gambar 23. Aktivitas antifungi terjadi pada kisaran konsentrasi 20-100 µg./ml.

Untuk mengukur pengaruh GAFP terhadap permeabilitas membran hifa, hifa *P. sasakii* diinkubasi bersama dengan [¹⁴C] leusin. Selanjutnya hifa dicuci dan diperlakukan dengan GAFP, dan kemudian dilakukan pengukuran terhadap [¹⁴C] leusin yang lepas. Menunjukkan bahwa GAFP dapat meningkatkan 3-4 kali pelepasan asam amino ketika konsentrasi GAFP yang diberikan berkisar 20-100 µg/ml. Pada

konsentrasi yang sama thionin dapat menyebabkan pelepasan asam amino 20 kali lipat. Ini menunjukkan bahwa peranan GAFFP untuk meningkatkan permeabilitas membran hanya merupakan pengaruh sekunder, namun tidak merupakan penyebab utama dalam menghambat pertumbuhan hifa. Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan yaitu 20 µg/ml. Pada konsentrasi di atas 100 µg/ml GAFFP tidak dapat menyebabkan pelepasan asam amino lebih banyak lagi.

GAFFP yang diaplikasikan ke dalam hifa *P. sasakii* Ito menyebabkan kondisi medium menjadi lebih alkalin yaitu dari 6,01 menjadi 6,30 setelah diaplikasikan 5 menit. Setelah lebih dari 5 menit, kenaikan pH berjalan lambat yaitu dari 6,30 menjadi 6,41. pH akhir medium tetap bertahan 6,41. Adanya perubahan yang cepat (5 menit) menuju kondisi alkalin menunjukkan bahwa GAFFP dapat menyebabkan perubahan dalam ion fluks pada membran fungi.

4. Pengaktif enzim fosfolipase A2 dan mobilisasi asam arakhidonat dalam makrofage

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Bianco *et al.* (2000) menunjukkan bahwa kitosan yang berasal dari dinding sel fungi mampu mengaktifkan makrophage guna meningkatkan mobilisasi asam arakidonat bahan, yang mana aktivitasnya ini tergantung pada dosis dan waktu yang ada. Maksud penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi faktor intraseluler yang berimplikasi pada penginduksian pelepasan arakidonat oleh kitosan melibatkan cytosolic group IV phospholipase A2 (PLA₂), sebagai penyesuaian oleh pengaruh penghambatan methyl arachidonoyl fluorophosphate tetapi tidak oleh bromoenol lactone. Menariknya, makrophage yang diprimer oleh lipopolisakarida bakteri sel lebih sensitif terhadap kitosan, dan peningkatan ini secara total diblok oleh secretory PLA inhibitor 3-(3-acetamide)-1-benzyl-2-ethylindolyl-5-oxypropanesulfonic acid (LY311727). Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa kitosan mempunyai kemampuan untuk mengaktifkan makrophage melalui mobilisasi asam arakidonat dalam makrophage P388D1 melalui mekanisme yang melibatkan dua phospholipase A2 yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Bianco ID, Balsinde J, Beltramo DM, Castagna LF, Landa CA, Dennis EA. 2000. Kitosan-induced phospholipase A2 activation and arachidonic acid mobilization in P388D1 macrophages. *FEBS Letters*. 466: 292-294.
- [Http://dalwoo.com/chitosan/whatischitosan.html](http://dalwoo.com/chitosan/whatischitosan.html)
- Huang X, Xie W, Gong, ZX. 2000. Characteristics and antifungal activity of a chitin binding protein from *Ginkgo biloba*. *FEBS Letters*. 478: 123-126.
- Janes KA, Alonso MJ 2003. Depolymerized chitosan nanoparticles for protein delivery. Preparation and Characterization. *J Appl Pol Sci*. 88: 2769-2776.
- Kawamura M, Mitsuhashi H, Tanibe H, Yoshi. 1993. Adsorption of metal ions on polyaminated highly porous chitosan chelating resin. *Ind. Eng. Chem. Res* 32: 386-391.
- Muzarelli RAA. 1977. *Chitin*. Pergamon Press. Oxford. UK.
- Ravi Kumar MNV. 2000. *Chitin and Chitosan for Versatile Application*. Homepage: mnavrkumar@mailcity.com
- Roller S, Covill N. 2000. The antimicrobial properties of chitosan in mayonnaise and mayonnaise-based shrimp salads. *J Food Protect*. 63: 202-209.
- Shahidi F, Janak KVA, Yon JJ. 1999. *Food Applications of Chitin Chitosans*. Dept. of Biochemistry Memorial Univ of Newfoundland. St Johns N.F. A. B. 3 YG Canada Elsevier Science Ltd.
- Simpson BK 1997. Utilization of Chitosan for Preservation of Raw Shrimp. *Dalam Food Biotechnology II*. 25-44.
- Tsai GJ, Su WH. 1999. Antibacterial activity of shrimp chitosan against *Escherichia coli*. *J. Food Protect*. 62: 239-243.
- Wang G. 1992. Inhibition and inactivation of fine species of foodborne pathogens by chitosan. *J. Food Protection*. 37: 916-919.