

**SKRIPSI**

**PENGARUH KHITOSAN TERHADAP ISOLAT  
*Staphylococcus epidermidis* PENYEBAB KETOMBE**

**Yang Diajukan Oleh :**

**DEWI NURHAYATI  
02613150**

**Telah disetujui oleh :**

**Pembimbing Utama,**

**Pembimbing Pendamping,**



**Edang Darmawan, M. Si., Apt.**

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Dra. Th. Tri Suharni M.'.

**Dra. Th. Tri Suharni M.**

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya, juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.



Yogyakarta, Desember 2006

Penulis,

Dewi Nurhayati

## DAFTAR LAMPIRAN

1. Komposisi dan pembuatan media .....	43
2. a. Sterilisasi alat .....	47
2. b. Pembuatan stok bakteri .....	47
2. c. Pembuatan suspensi bakteri .....	47
2. d. Foto hasil penelitian.....	48
3. Data hasil penelitian.....	52



Beberapa metode pernah dilaporkan untuk menentukan derajat deasetilasi. Termasuk tes ninhidrin, linear potensiometrik titrasi, spektroskopi inframerah jarak dekat, *nuclear magnetic resonance spectroscopy*, hidrogen bromida titrimetri, spektroskopi inframerah, dan spektroskopi UV (Khan dkk., 2002).

b. Sifat antibakteri dari khitosan :

Sifat antibakteri dari khitosan tergantung pada berat molekul dan tipe bakteri, untuk bakteri Gram positif, khitosan dengan berat molekul 470 Kda lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri, kecuali untuk *Lactobacillus sp*, sedangkan untuk bakteri Gram negatif, khitosan dengan berat molekul 1106 Kda lebih efektif. Khitosan secara umum menunjukkan efek bakterisidal yang kuat untuk bakteri Gram positif daripada untuk bakteri Gram negatif yang ditunjukkan oleh khitosan 0,1% (No dkk., 2002). Menurut Cuero (1999) kerja antibakteri dari khitosan dipengaruhi oleh faktor intrinsik dan ekstrinsik seperti tipe khitosan, derajat polimerisasi dari khitosan, substrat kimia dan atau komposisi kimia, dan kondisi lingkungan seperti aktivitas substrat air. Tsai dan Su (1999) menjelaskan mekanisme kerja antibakteri dari khitosan meliputi ikatan silang antara polikation dari khitosan dan anion pada permukaan bakteri yang mengubah permeabilitas membran.

Khitosan tidak beracun, mudah mengalami biodegradasi dan bersifat polielektrolitik (Hirano, 1986). Khitosan merupakan flokulan, koagulan yang baik serta pengkelat logam (Hartanto dkk., 2003). Disamping itu khitosan dapat dengan mudah berinteraksi dengan zat-zat organik lainnya seperti protein dan lemak. Oleh karena itu, khitosan relatif lebih banyak digunakan pada berbagai bidang industri terapan dan industri farmasi dan kesehatan (Muzzarelli, 1986).

Isolasi khitin dari limbah kulit udang dilakukan secara bertahap yaitu tahap pemisahan protein (deproteinisasi) dengan larutan basa, demineralisasi, tahap pemutihan (*bleaching*) dengan aseton dan natrium hipoklorit. Sedangkan transformasi khitin menjadi khitosan dilakukan tahap deasetilasi dengan basa berkonsentrasi tinggi (Ferrer dkk., 1996; Arreneuz, 1996, dan Fahmi, 1997).

Untuk mengetahui apakah produk yang dihasilkan benar-benar khitin adalah dengan di deteksi dengan reaksi warna Van Wesslink, yaitu yang pertama di reaksikan dengan Iodium-KI menghasilkan warna coklat, yang kedua dengan direaksikan dengan

**(b) Penghambatan khitosan terhadap *Staphylococcus epidermidis* dalam media nutrien cair**

Media nutrien cair ditambah suspensi bakteri uji  $10^8$  CFU/ml kemudian ditambah khitosan yang dibuat pengenceran dengan kadar 0,5%, 0,25%, 0,125%, 1% kemudian inkubasi  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam, amati kekeruhan dan tentukan kadar hambat minimal. Disini digunakan pembanding berupa perlakuan nutrien cair ditambah dengan bakteri uji dan shampoo yang mengandung zink 1%, nutrien cair ditambah bakteri uji dan asam asetat glasial 0,1 %, nutrien cair dengan bakteri uji, dan nutrien cair saja. Untuk mempertegas hasil maka dilakukan uji penghambatan khitosan 0,5% terhadap *Staphylococcus epidermidis* dalam media nutrien cair dan pada waktu-waktu tertentu (0, 1, 2, 3, 6, 24, 27, 30, 72, 75 jam) diambil dan ditanam secara taburan pada media nutrien agar kemudian diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam dan dihitung jumlah bakteri yang tumbuh. Data yang diperoleh dikemas dalam bentuk kurva pertumbuhan dan digunakan untuk menentukan jumlah generasi (n), konstanta kecepatan pertumbuhan (k), waktu generasi (g) dan kecepatan pertumbuhan secara praktis ( $\mu$ ).

Jumlah generasi (n):

$$n = \frac{\log N - \log N_o}{0,301} \dots\dots\dots 1)$$

Konstanta kecepatan pertumbuhan (k):

$$k = n/t = k = \frac{\log N - \log N_o}{0,301t} \dots\dots\dots 2)$$

Waktu generasi (g):

$$g = 1/k \dots\dots\dots 3)$$

Kecepatan pertumbuhan secara praktis ( $\mu$ ):

$$\mu = 0,693k \dots\dots\dots 4)$$

keterangan: t = waktu pertumbuhan  
 N = populasi bakteri akhir  
 No = populasi bakteri mula-mula

telah mengalami perubahan sifat karena perbedaan nutrisi yang diberikan. *Staphylococcus epidermidis* dipilih karena pada dasarnya ketombe dapat disebabkan oleh 2 hal pokok yaitu peningkatan sekresi sebum dan pertumbuhan jamur atau bakteri. Bakteri yang biasa ditemukan mengalami peningkatan jumlah pada pasien berketombe adalah (1) *Pityrosporum*, (2) aerobic kokus (salah satunya adalah *Staphylococcus epidermidis*), dan (3) *Corynebacterium acnes*.

*Staphylococcus epidermidis* sebenarnya merupakan flora normal pada kulit manusia. Patogenesis dari bakteri ini terjadi jika jumlah bakteri ini mengalami peningkatan. *Staphylococcus epidermidis* dapat memproduksi asam teikoat yang dapat membentuk lapisan biofilm pada permukaan protein sel inang sehingga menyebabkan terjadinya penjendalan protein sel inang. Adanya penjendalan protein sel inang menyebabkan timbulnya peradangan, nekrosis dan yang paling khas dari infeksi bakteri ini yaitu pembentukan abses. Adanya peradangan, nekrosis dan abses memacu terjadinya kematian sel kulit kepala sehingga memacu proses perbaikan kulit, kulit kepala yang terkelupas menjadi kotoran dirambut (ketombe).

Usaha untuk mengatasi ketombe salah satunya adalah dengan menurunkan jumlah bakteri penyebab ketombe. Tsai dan su (1999) menjelaskan bahwa khitosan dapat digunakan sebagai antibakteri, dengan mekanismenya yang meliputi pembentukan ikatan silang antara polikation dari khitosan dan anion pada permukaan sel bakteri sehingga mengubah permeabilitas membran sel bakteri.

*Staphylococcus epidermidis* diisolasi dari kulit kepala dengan cara permukaan kulit kepala dikerok dengan menggunakan spatula yang steril dan ditampung dalam petri dish kosong yang steril. Kemudian isolasi isolat dilakukan oleh laboran dilaboratorium mikrobiologi fakultas kedokteran UGM, kemudian dilakukan uji identifikasi terhadap *Staphylococcus epidermidis* yang meliputi pengecatan gram, uji katalase, uji fermentasi glukosa, uji fermentasi manitol, dan uji fermentasi fruktosa.

Hasil uji dalam tabel berikut menunjukkan karakteristik yang sesuai dengan *Staphylococcus epidermidis*, sehingga disimpulkan bahwa bakteri yang digunakan dalam penelitian benar-benar *Staphylococcus epidermidis*.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

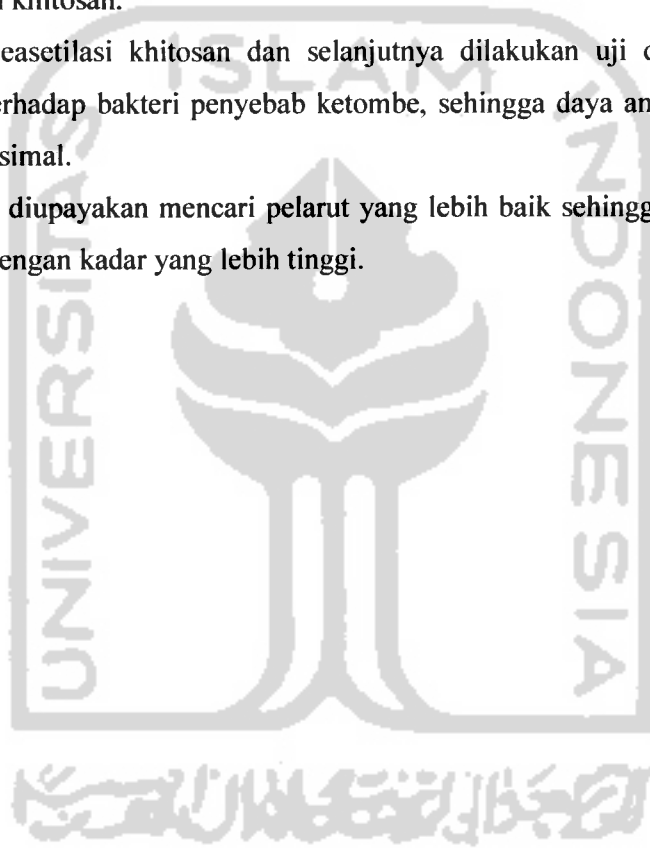
#### **A. Kesimpulan**

Dari uji dapat disimpulkan bahwa khitosan belum dapat memberikan daya hambat terhadap *Staphylococcus epidermidis*.

#### **B. Saran**

Peneliti menyarankan perlunya dilakukan penelitian tentang :

1. Pemurnian khitosan.
2. Derajat deasetilasi khitosan dan selanjutnya dilakukan uji daya hambat khitosan tersebut terhadap bakteri penyebab ketombe, sehingga daya antibakteri dari khitosan dapat maksimal.
3. Selain itu diupayakan mencari pelarut yang lebih baik sehingga dapat dibuat larutan khitosan dengan kadar yang lebih tinggi.



## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1993, *Dasar-dasar Pemeriksaan Mikrobiologi*, Bag. Mikrobiologi, Fak. Kedokteran UGM, hal. 114 – 116, 120 – 121.
- Anonim, 1994, *Mikrobiologi Kedokteran*, Binarupa Aksara, hal :103, 111.
- Anonim, 1994, *Pengolahan dan Pemanfaatan Limbah Hasil Perairan seri 1*, Dirjen Perikanan, Jakarta.
- Anonim, 2005, *Chitin*, available at [http : // www.wikipedia](http://www.wikipedia), The Free Encyclopedia (diakses 18 Oktober 2005).
- Anonim, 2005, *Preparation of Chitin and Chitosan*, available at [http :// www.Chitosan @dalwoo.com](http://www.Chitosan@dalwoo.com), (diakses 18 Oktober 2005).
- Arreneuz, S., 1996, Isolasi Khitin dan Transformasinya menjadi Khitosan dari Limbah Kepiting Bakau (*Seylla Serrata*), *Skripsi*, Universitas Jendral Ahmad Yani, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Bandung.
- Bergey, 2001, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2<sup>nd</sup> edition. Vol I. Springer Verlag, New York.
- Choi, Y, Jung, HS, Kim, HR, Lee, EJ, Lee, EH, Shin, TY, Kim, HM, and Hong, SH, 2004, OK205 Regulates Production of Inflammatory Cytokines in HMC-1 Cells, *Biol. Pharm. Bull.* 27(11) 1871—1874.
- Cuero, R. G., 1999, *Antimicrobial action of exogenous chitosan*, 87. P. 315-333.
- Fahmi, R., 1997, Isolasi dan Transformasi Khitin Menjadi Khitosan, *Jurnal Kimia Andalas.* 3 (1) : 61 – 68.
- Ferrer, J. G. Paez, Z. Marmol, E. Ramons, H. Garcia and C.F. Forster, 1996, Acid hydrolysis of Shrimp ShellWastes and The Production of Single Chell Protein from The Hydrolysate, *Journal Bioresour Technology* 57 (1) : 55 – 60.
- Fochet, B., Naggi, A., Tarri, G., Cosami, A. and Terbojevich, M., 1992, Structural Differences Between Chitin Polymorphs and Their Precipitates from Solution Evidence from CP-MAS 13 C-NMR, FT-IR and FT-Raman Spectroscopy, *Charbohidrat Polymer.* 17 (2) : 97 – 102.
- Ganiswara,s., 1995, *Farmakologi Dan Terapi*, Edisi 4, Fak Kedokteran UI, Jakarta, hal:571,572.
- Gottenbos dkk., 2000, Initial adhesion and surface growth of *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* on biomedical polymers, *Journal of biomedical materials research* 50: 208.
- Hartanto, E.S., Bastaman, S., dan Citroreksoko, P., 2003, *Pengaruh Penambahan Khitosan (Chitosan) dan Lama Pengendapan terhadap Hasil Penanganan Limbah Cair Industri Penyamakan Kulit*, Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Industri Hasil Pertanian; Departemen Perindustrian dan Perdagangan, Bogor.
- Hirano, S., 1986, *Chitin and Chitosan*, *Ulmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Republicka of Germany, 5<sup>th</sup> . ed, A 6: 231 – 232.
- Julius, 1990, *Mikrobiologi Dasar*, Staf Pengajar Bagian Mikro dan Imunologi Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti, Penerbit Binarupa Aksara, Jakarta, 84-85, 188.
- Jutono dkk., 1973, *Pedoman praktikum mikrobiologi umum*, Departemen mikrobiologi, Fakultas pertanian UGM, Yogyakarta.



## LAMPIRAN 3

## JUMLAH KOLONI BAKTERI

## BAKTERI + KHITOSAN

Waktu (jam)	Jumlah koloni bakteri									
	Pengenceran (Replikasi 1)					Pengenceran (Replikasi 2)				
	$10^0$	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^0$	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$
0	139	25	25	-	-	79	27	21	-	-
1	150	80	80	-	-	162	90	61	-	-
2	>300	240	150	-	-	>300	301	102	-	-
3	>300	301	296	-	-	>300	328	330	-	-
6	>300	361	358	-	-	200	201	176	-	-
24	>300	>300	>300	432	-	>300	291	101	98	-
27	>300	>300	>300	523	60	>300	>300	>300	320	30
30	>300	>300	>300	485	62	>300	>300	>300	210	21
72	>300	>300	>300	501	70	>300	>300	>300	352	29
75	>300	>300	>300	491	54	>300	>300	>300	303	55

## BAKTERI SAJA

Waktu (jam)	Jumlah koloni bakteri									
	Pengenceran (Replikasi 1)					Pengenceran (Replikasi 2)				
	$10^0$	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^0$	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$
0	150	155	145	-	-	142	139	30	-	-
1	260	100	55	-	-	300	112	76	-	-
2	>300	306	101	-	-	>300	300	200	-	-
3	>300	375	255	-	-	>300	305	295	-	-
6	>300	370	372	-	-	>300	286	162	-	-
24	>300	>300	>300	371	-	>300	>300	>300	321	81
27	>300	>300	>300	540	44	>300	>300	>300	422	42
30	>300	>300	>300	500	54	>300	>300	>300	207	21
72	>300	>300	>300	502	60	>300	>300	>300	312	98
75	>300	>300	>300	480	52	>300	>300	>300	295	81

## JUMLAH BAKTERI

**Jumlah bakteri : jumlah koloni bakteri x volume media (5 ml) x pengenceran**

### BAKTERI + KHITOSAN

Waktu (jam)	Jumlah bakteri									
	Pengenceran (Replikasi 1)					Pengenceran (Replikasi 2)				
	$10^0$	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^0$	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$
0	695	-	-	-	-	395	-	-	-	-
1	750	4000	40000	-	-	810	4500	30500	-	-
2	-	12000	75000	-	-	-	15050	51000	-	-
3	-	15050	148000	-	-	-	16400	165000	-	-
6	-	18050	179000	-	-	1000	10050	88000	-	-
24	-	-	-	2160000	-	-	14550	50500	490000	-
27	-	-	-	-	3000000	-	-	-	1600000	1500000
30	-	-	-	-	3100000	-	-	-	1050000	-
72	-	-	-	-	3500000	-	-	-	1760000	1450000
75	-	-	-	-	2700000	-	-	-	1515000	2750000

### BAKTERI SAJA

Waktu (jam)	Jumlah bakteri									
	Pengenceran (Replikasi 1)					Pengenceran (Replikasi 2)				
	$10^0$	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^0$	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$
0	750	7750	72500	-	-	710	6950	15000	-	-
1	1300	5000	27500	-	-	1500	5600	38000	-	-
2	-	15300	50500	-	-	-	15000	100000	-	-
3	-	-	127500	-	-	-	15250	147500	-	-
6	-	18500	186000	-	-	-	14300	81000	-	-
24	-	-	-	1855000	-	-	-	-	1605000	4050000
27	-	-	-	-	2200000	-	-	-	-	2100000
30	-	-	-	-	2700000	-	-	-	1035000	-
72	-	-	-	-	3000000	-	-	-	1560000	4900000
75	-	-	-	-	2600000	-	-	-	1475000	4050000