

UJI AKTIVITAS ANTIFUNGI KITOSAN TERHADAP *Aspergillus flavus*

Rinto M. Nur^{1*}, Resmila Dewi²

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Pasifik Morotai¹

Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada²

*Jl. Siswa Darame, Kampus UNIPAS Morotai, Pulau Morotai, Maluku Utara 97771,
Indonesia

*Email: rintomnur777@gmail.com

ABSTRAK

Kitosan merupakan suatu polisakarida yang dideasetilasi dari kitin dan dapat ditemukan pada eksoskeleton invertebrata. Kitosan dapat digunakan sebagai bahan pengawet makanan karena memiliki aktivitas anti mikroba. Salah satu mikroba penghasil aflatoksin yang sering ditemukan mengontaminasi pangan adalah *Aspergillus flavus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antifungi kitosan terhadap *A. flavus* dan menemukan konsentrasi kitosan yang tepat sebagai antifungi terhadap kapang kontaminan. *Aspergillus flavus* merupakan salah satu jenis kapang penghasil aflatoksin yang sering ditemukan mengontaminasi produk pangan. Pengujian aktivitas antifungi kitosan terhadap *A. flavus* dilakukan dengan metode difusi sumur menggunakan media PDA. Larutan kitosan dibuat dengan menggunakan pelarut asam asetat 0,5%. Konsentrasi kitosan yang digunakan ialah 0; 0,5; 1; 1,5; dan 2%. Ketokonazole 2% digunakan sebagai kontrol positif. Setiap perlakuan dibuat dalam 4 ulangan. Biakan diinkubasi selama 7 hari dan dilakukan pengukuran diameter zona hambat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kitosan dapat menghambat pertumbuhan *A. flavus*. Selain itu, pembentukan zona hambat lebih besar pada perlakuan kitosan 2% ($13,81 \pm 0,24$ mm) dan hasil ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan ketokonazole 2% ($14,56 \pm 0,43$ mm).

Kata kunci: kitosan, antifungi, aspergillus flavus

PENDAHULUAN

Kitosan merupakan suatu polisakarida yang dideasetilasi dari kitin. Kitosan dapat diperoleh dari eksoskeleton invertebrata terutama crustacea. Kitosan dapat diekstrak dari kulit udang (Cheng dkk., 2006; Sri dkk., 2013; Nur dan Dewi, 2016), kulit kepiting/rajungan (Silvia, 2015), sisik ikan, dan hewan lainnya yang mengandung kitin. Ongki dkk. (2016) juga melaporkan bahwa kitosan diperoleh dari proses deproteinasi, demineralisasi dan deasetilasi limbah industri ebi. Kitosan umumnya berbetuk serbuk, berwarna krem atau putih, dan larut dalam larutan asam. Kitosan dilaporkan dapat dijadikan sebagai adsorben logam berat yang terdapat dalam air yang tercemar (Sri dkk., 2013). Kitosan bahkan digunakan sebagai peregenerasi tulang (Zhao dkk., 2002; Seo dkk., 2004). Kitosan juga digunakan sebagai bahan pelapis (*edible coating*). Selain itu, kitosan juga dilaporkan memiliki sifat bakterostatik dan fungistatik untuk mencegah infeksi (Aprilia, 2018).

Kapang merupakan salah satu kontaminan yang sering ditemukan pada bahan pangan. Kontaminan ini menyebabkan mutu bahan tersebut menurun. Salah satu jenis kapang yang sering ditemukan mengontaminasi bahan pangan adalah *Aspergillus flavus*. *Aspergillus flavus* merupakan kapang penghasil mikotoksin (aflatoksin). Aflatoksin yang dihasilkan bersifat

karsinogenik, hepatotoksik dan mutagenik. Kapang jenis ini ditemukan mengontaminasi kacang tanah (Kasno, 2009). Selain itu, *A. flavus* juga ditemukan mengontaminasi produk hasil perikanan seperti kerang, ikan teri kering, ikan asin, dan ikan kayu. Hal tersebut perlu dilakukan pencegahan atau menemukan bahan untuk mengatasi kontaminasi *A. flavus*.

METODE PENELITIAN

Pembuatan Larutan Kitosan

Konsentrasi kitosan yang digunakan adalah 0; 0,5; 1; 1,5; dan 2%. Dibuat larutan stok kitosan dengan konsentrasi 10%. Sebanyak 50 g kitosan ditambahkan dengan 250 ml asam asetat 1% dan ditambahkan aquades hingga volumenya 500 ml. Selanjutnya dilakukan pengenceran untuk diperoleh konsentrasi uji. Kitosan 0% digunakan larutan asam asetat 0,5% (pelarut kitosan).

Uji Aktivitas Antifungi Kitosan terhadap *A. flavus*

Pengujian aktivitas antifungi kitosan terhadap *A. flavus* dilakukan dengan metode difusi sumur menggunakan media PDA. *Aspergillus flavus* ditumbuhkan secara *spread* di permukaan media PDA. Selanjutnya dibuat lubang sumuran menggunakan *cork borer* dengan diameter 6 mm. Setiap petridish dibuat 6 sumuran. Setiap sumuran diisi dengan larutan kitosan sebanyak 25 µl sesuai dengan kelompok perlakuan. Ketokonazole 2% digunakan sebagai kontrol positif. Masing-masing perlakuan dibuat dalam 4 ulangan. Biakan diinkubasi selama 7 hari dan dilakukan pengukuran diameter zona hambat.

Pengukuran Zona Hambat

Diameter zona hambat diperoleh dari pengurangan diameter zona bening dengan diameter sumuran. Diameter zona bening yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong.

Analisis Data

Hasil ekstraksi kitosan dianalisis secara deskriptif. Data diameter zona hambat kitosan terhadap *A. flavus* dianalisis dengan *One Way Anova* yang dilanjutkan dengan *Duncan's Multiple Range Test* pada taraf signifikan 0,05 menggunakan SPSS 22,0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji aktivitas antifungi kitosan terhadap *A. flavus* dilakukan dengan metode difusi sumuran. Uji ini dilakukan dengan menentukan aktivitas penghambatan kitosan dengan melihat terbentuknya zona bening di sekitar sumuran yang berisi larutan kitosan. Semakin besar zona hambat yang terbentuk menunjukkan semakin tinggi aktivitas antifunginya. Hasil uji aktivitas antifungi kitosan terhadap *A. flavus* dapat dilihat dalam Tabel 1.

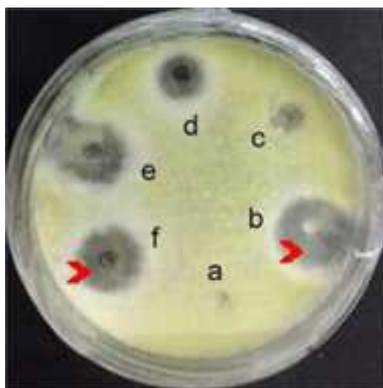
Tabel 1. Uji aktivitas antifungi kitosan terhadap *A. flavus*

Bahan	Diameter zona hambat (mm)*
Ketokonazol 2%	14,56±0,43 e
Kitosan 0%	0,00±0,00 a
Kitosan 0.5%	6,25±0,96 b
Kitosan 1%	9,38±1,38 c
Kitosan 1.5%	12,38±0,48 d
Kitosan 2%	13,81±0,24 e

* angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata; \pm SD; n = 4; α = 0,05.

Hasil uji aktivitas antifungi kitosan terhadap *A. flavus* menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi kitosan berpengaruh nyata terhadap diameter zona hambat *A. flavus* (Tabel 1) dan semakin tinggi konsentrasi kitosan yang digunakan, maka diameter zona hambatpun semakin besar (Gambar 1). Perbedaan diameter zona hambat pada setiap konsentrasi kitosan disebabkan oleh perbedaan zat aktif yang terkandung di dalamnya. Semakin tinggi konsentrasi kitosan, maka semakin banyak komponen zat aktif yang terkandung di dalamnya, sehingga zona hambat yang terbentuk juga semakin besaar. Pelczar dan Chan (2005) menyatakan bahwa konsentrai senyawa antifungi merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi efisiensi daan efektivitas antifungi tersebut.

Penggunaan kitosan 2% memiliki aktivitas antifungi terhadap *A. flavus* tertinggi (diameter zona bening 13,81±0,24 mm). Hasil ini tidak berbeda nyata dengan ketokonazol 2% (14,56±0,43 mm). Dewi dan Nur (2017) melaporkan bahwa penggunaan kitosan 1,5% mampu menghambat perumbuhan *A. flavus*, *A. niger*, *A. fumigatus*, dan *A. ochraceus* lebih dari 50%. Dewi dan Soetarto (2017) melaporkan bahwa penggunaan kitosan 1,5% dapat memperpanjang umur simpan ikan kayu hingga 28 hari dan memberikan hasil organoleptik yang paling baik.



Gambar 2. Uji penghambatan kitosan terhadap *A. flavus*. a. kitosan 0% (asam asetat 0,5% sebagai kontrol negatif); b. ketokonazole 2% (kontrol positif); c. kitosan 0,5%; d. kitosan 1%; e. kitosan 1,5%; f. kitosan 2%. Arah panah merah menunjukkan zona bening yang terbentuk. Diameter petridish 9 cm.

Zona hambat yang terbentuk menunjukkan kitosan yang digunakan memiliki aktivitas penghambatan terhadap *A. flavus* dikategorikan sedang hingga kuat. Kitosan 0,5% ($6,25 \pm 0,96$ mm) dan 1% ($9,38 \pm 1,38$ mm) dikategorikan memiliki aktivitas antifungi sedang. Kitosan 1,5% ($12,38 \pm 0,48$ mm) dan 2% ($13,81 \pm 0,24$ mm) dikategorikan memiliki aktivitas antifungi kuat. David dan Stout (1971) mengategorikan aktivitas penghambatan antifungi dalam 4 kategori berdasarkan diameter zona hambatnya yaitu sangat kuat (>20 mm), kuat (11—20 mm), sedang (6—10 mm), dan lemah (<5 mm).

Aktivitas antifungi kitosan bersal dari enzim kitinase yang menghambat pertumbuhan hifa cendawan (Rhoades dan Roller (2000). Hal senada juga dilaporkan oleh Rogis dkk. (2007) bahwa aktivitas antifungi kitosan karena adanya aktivitas enzim kitinase (-1,3-glukanase). Lebih lanjut Kong dkk. (2010) melaporkan bahwa dalam kitosan terdapat enzim lisozim yang dapat memecahkan dinding sel kapang, sehingga pertumbuhan kapang terganggu. Hernandez-Lauzardo dkk. (2011) menyatakan bahwa kitosan berinteraksi langsung dengan membran sel kapang, sehingga mengganggu permeabilitas membran dan menyebabkan kematian sel.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kitosan memiliki aktivitas antifungi terhadap *Aspergillus flavus*. Pemberian kitosan dengan konsentrasi semakin tinggi menunjukkan aktivitas antifungi terhadap *A. flavus* lebih besar pula. Pembentukan zona hambat lebih besar pada perlakuan kitosan 2% ($13,81 \pm 0,24$ mm) dan hasil ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan ketokonazole 2% ($14,56 \pm 0,43$ mm).

DAFTAR PUSTAKA

- Aprilia R. 2008. Analisis Produksi Fosfatase Alkali oleh Osteoblas yang Distimuli Graft Berbentuk Pasta pada Berbagai Komposisi, Konsentrasi dan Waktu yang Berbeda (In Vitro). Jakarta: FKG UI.
- Cheng, J & Mao, Q. 2006. Kinetics of Heterogenous Deacetylation of β -Chitin. Department of Biology and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hang-Zhou. China.
- David W.W. dan Stout R. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *American Society for Microbiology*, 22(4): 659—665.
- Dewi R dan Nur RM. 2017. Antifungal Activity of Chitosan on *Aspergillus* spp. *International Journal of Bioengineering & Biotechnology*, 2(4): 24—30.
- Dewi R dan Soetarto ES. 2017. The Utilization of Chitosan from Shrimp Shells as Edible Coating for Wooden Fish (Keumamah). *American Journal of Food Science and Nutrition Research*, 4(6): 178—183.
- Hernandez-Luzardo A.N., Miguel G.V.V. dan Maria G.G. 2011. Current Status of Action Mode and Effect of Chitosan Against Phytopathogens Fungi. *African Journal of Microbiology Research*, 5(25): 4243—4247.
- Kasno A. 2009. Pencegah Infeksi *A. flavus* dan Kontaminasi Aflatoksin pada Kacang Tanah. *Iptek Tanaman Pangan*, 4(2): 194—201.
- Nur R.M. dan Dewi R. 2016. Pemanfaatan Limbah udang sebagai Kitosan. *Unipas Press*, 1(2): 16—20.
- Kong M., Chen X.G., Xing K., dan Park H.J. 2010. Antimicrobial Properties of Chitosan and Mode of Action: A state of the art review. *Journal Food Microbiol*, 144(1):51—63.
- Ongki, A., Fadli, A., Drastinawati, 2016, “Konversi Kitin Menjadi Kitosan dari Limbah Industri Ebi”, Skripsi Fakultas Teknik Kimia. UNRI. Pekanbaru.
- Pleczar J. dan Chan E.C.S. 2005. Dasar-Dasar Mikrobiologi 2. UI Press. Jakarta.
- Rhoades dan Roller. 2000. Antimicrobial Actions of Degraded and Native Chitosan Against Spoilage Organisms in Laboratory Media and Foods. *Appl Environ Microbiol*, 66(1): 80—86.
- Rogis A., Tunjuung P. dan Mucharromah. 2007. Karakterisasi dan Uji Efikasi Bahan Senyawa Alami Kitosan terhadap Patogen Pascapanen Antak nosa *Colleotrichum musae*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*, 9(1): 58—63.
- Seo, Yj., Lee, Jy., Park, Yj., Lee, Ym., Yong, K., Rhyu, Ic., And Han, SB., 2004. Chitosan sponges as tissue engineering scaffolds of bone formation, *Biotechnol Lett.*, 26, 1037-1041
- Silvia R., Waryani SW dan Hanum F. 2015. Pemanfaatan Kitosan dari Cangkang Rajungan (*Portonius sanguinolentus* L.) sebagai Pengawet Ikan Kembung (*Rastrelliger sp.*) dan Ikan Lele (*Clarias batrachus*). *Jurnal Teknik Kimia USU*, 3(4).
- Sry A., Yeti K., 2013. Pembuatan kitosan dari cangkang udang dan aplikasinya sebagai adsorben untuk menurunkan kadar logam Cu. KIP Mataram. Mataram.
- Zhao F, Yin Y, Lu W, Leong J, Zhang W, Zhang J, Zhang M, Kangde K. 2002. Preparation and histological evaluation of biomimetic three-dimensional hydroxyapatite/chitosan gelatin network composite scaffolds. *Biomaterials* 23:3227-3234.