

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Udang Vanname

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Udang Vanname

Adapun klasifikasi udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) menurut

Haliman dan Dian (2006) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Sub kingdom	: <i>Metazoa</i>
Filum	: <i>Arthropoda</i>
Subfilum	: <i>Crustacea</i>
Kelas	: <i>Malacostraca</i>
Subkelas	: <i>Eumalacostraca</i>
Superordo	: <i>Eucarida</i>
Ordo	: <i>Decapodas</i>
Subordo	: <i>Dendrobrachiata</i>
Familia	: <i>Penaeidae</i>
Sub genus	: <i>Litopenaeus</i>
Spesies	: <i>Litopenaeus vannamei</i>

Udang vanname memiliki kepala terdiri dari antenula, antena, mandibula, dan dua pasang maxillae. Kepala udang vannamei juga dilengkapi dengan tiga pasang maxilliped untuk makan dan lima pasang kaki berjalan (*periopoda*) atau kaki sepuluh (*decapoda*). Endopodit kaki berjalan menempel pada chepalothorax yang dihubungkan oleh coxa. Di antara coxa dan dactylus, terdapat ruang berturut-turut disebut basis, 6 ischium, merus, carpus, dan cropus. Genus penaeus ditandai dengan adanya gigi pada bagian atas dan bawah rostrum serta hilangnya bulu cambuk (*setae*) pada tubuhnya. Secara khusus udang ini memiliki 2 gigi pada tepi rostrum bagian ventral dan 8-9 gigi pada tepi rostrum bagian dorsal (Haliman dan Adijaya, 2005).

Tubuh udang vanname dibagi dalam dua segmen yaitu *cephalothorax* dan *abdomen*. Sebagian besar organ, seperti insang, jantung, hepatopankreas dan perut terletak di *cephalothorax*, sedangkan usus dan reproduksi organ dalam perut otot. Pelengkap dari *cephalothorax* yang dimodifikasi menjadi bentuk yang

berbeda, termasuk lima pasang kaki berjalan (pereiopoda), struktur rahang seperti, antennula dan antena. Sepasang mata majemuk yang memiliki fungsi sensorik. Lima pasang kaki renang (pleopoda) yang terletak di perut (Hickman *et al.*, 2006).



Gambar 1. Udang vanname (*Litopenaeus vannamei*) (Boone, 1931)

*Litopenaeus vannamei* menurut Bone (1931), memiliki rostrum yang panjang dengan 7-10 dorsal dan 2-4 gigi ventral. Pada udang vanname jantan dewasa memiliki petasma yang simetris dan semi-terbuka. Spermatopores yang kompleks, yaitu kumpulan sperma terkemas didalam selubung lapisan tipis. Sementara udang vannamei betina dewasa memiliki thelycum terbuka. Udang betina umumnya lebih cepat tumbuh dan lebih besar daripada laki-laki. Selain itu sama halnya dengan kelompok Artopoda lainnya, *Litopenaeus vannamei* menurut An (2011), memiliki sistem peredaran darah terbuka. Dimana Jantung memompa hemolimfa ke seluruh tubuh, di mana pertukaran gas dan nutrisi berlangsung (misalnya oksigen di insang). Kemudian haemolimfa kembali ke jantung melalui haemosel.

### 2.1.2 Kulit Udang Vanname

Udang merupakan jenis hewan air payau, badan beruas berjumlah 13 dan seluruh tubuh ditutupi oleh kerangka luar yang disebut *eksosketelon*. Eksoskeleton akan menjadi bagian dari udang yang sering dibuang dan menjadi limbah. Padahal diketahui bahwa limbah kulit udang mengandung senyawa

kimia berupa kitin, kitosan, kalsium karbonat, lemak, air, abu dan lain-lain (Fachry dan Sartika, 2012).

Indonesia memiliki 170 perusahaan pengolahan udang dengan total produksi sekitar 500.000 ton per tahun. Limbah padat dari udang dikeluarkan selama pengolahan sebanyak 75% dari berat total udang menjadi limbah, yaitu bagian cangkang dan kepala. Limbah udang tersebut masih belum dimanfaatkan secara optimal (Kelly *et al.*, 2005). Sebagian besar limbah udang yang dihasilkan oleh usaha pengolahan udang berasal dari kepala, kulit dan ekornya (Marganof, 2003).

Limbah kulit udang mengandung protein kasar sekitar 25-40 persen, kalsium karbonat 45-50 persen dan kitin 15-20 persen. Limbah udang juga mengandung *karotinoid* berupa *astaxantin* yang merupakan pro vitamin A untuk pembentukan warna kulit (Muzzarelli dan Joles, 2000). Limbah udang ini khususnya limbah kulit udangnya dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan produk bernilai tambah seperti enzim, asam laktik, dan produksi kitin ataupun kitosan (Duan *et.al.*, 2012). Kulit udang mengandung protein (25-40%), kitin (15-20%) dan kalsium karbonat (45-50%) (Suhardi, 1992).

Berikut ini adalah hasil analisa proksimat cangkang udang terutama jenis udang vaname menurut Suptijah *et al.* (2012) memiliki komposisi gizi seperti Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi cangkang udang vannamei

Parameter	Nilai (%bb)
Kadar air	12.35
Kadar abu	17.13
Kadar protein	47.18
Kadar lemak	1.25
Kadar Karbohidrat <i>by difference</i>	22.09
Kadar abu TLA	0.44

Sumber : Suptijah *et al.* (2012)

## 2.2 Kitin

Kitin merupakan bahan organik utama terdapat pada kelompok hewan krustasea, insekta, fungi, moluska, dan arthropoda. Cangkang kepiting, udang dan lobster telah lama diketahui sebagai sumber bahan dasar produksi kitin, karena kandungan kitinnya cukup tinggi. Cangkang kering arthropoda rata-rata mengandung 20-50% kitin (Suhardi, 1993). Kitin juga diketahui terdapat pada kulit siput, kepiting, kerang, dan bekicot (Stephen, 1995).

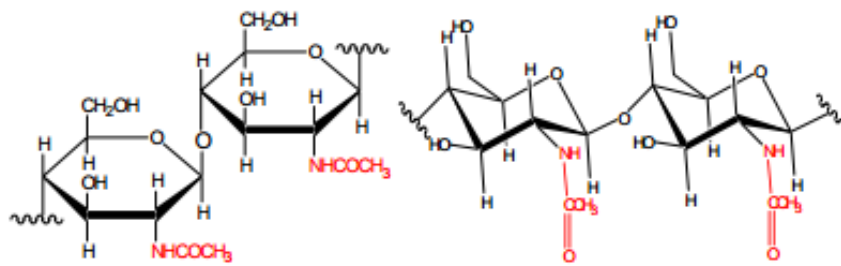
Kitin merupakan suatu polimer linier yang sebagian besar tersusun dari unit-unit  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-2-asetamida-2-deoksi- $\beta$ -D-glukopiranosida dan sebagian dari  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2-deoksi- $\beta$ -D-glukopiranosida (Kumirska *et al.*, 2010). Rantai kitin antara satu dengan yang lainnya berasosiasi melalui ikatan hidrogen yang sangat kuat antara gugus N-H dari satu rantai dengan gugus C=O dari rantai lain yang berdekatan. Ikatan hidrogen ini menyebabkan kitin tidak larut dalam air dan membentuk serabut (fibril) (Suryanto dan Yurnaliza, 2005).

Kitin memiliki kombinasi sifat khas seperti bioaktivitas, biodegradabilitas dan sifat liat, sehingga merupakan jenis polimer yang menarik dan dapat dimanfaatkan diberbagai bidang industri, misalnya bidang pangan, pertanian, mikrobiologi, penanganan air limbah, industri-industri kertas, tekstil, kosmetika dan lain-lain (Savitha and Timothy, 1997). Kitin secara alami tidak memiliki tingkat asetilasi yang lengkap, Kitin biasanya mempunyai derajat deasetilasi kurang dari 10% (Hartati *et al.*, 2002).

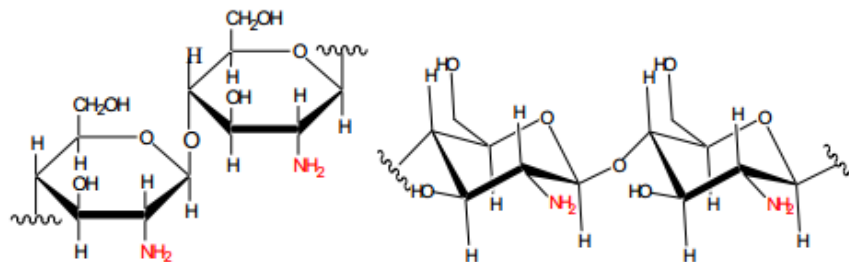
## 2.3 Kitosan

Kitosan secara natural merupakan komponen makromolekul berupa polisakarida yang dibentuk dari n-asetil-2-amino-2-deoksi-d-glukosa melalui ikatan  $\beta$ -(1,4) glikosida. Kitosan terbentuk ketika beberapa gugus asetil dihilangkan dari kitin melalui proses deasetilasi (Savant *et al.* 2000). Kitosan

bersifat non toksik dengan LD50 setara dengan 16 g/kg BB dan mempunyai berat molekul 800 Kda. Berat molekul ini tergantung dari derajat deasetilasi yang dihasilkan pada saat ekstraksi. Semakin banyak gugus asetil yang hilang dari biopolimer kitosan, maka semakin kuat interaksi antar ion dan ikatan hidrogen dari kitosan (Tang *et al.*, 2007).



Gambar 2. Struktur kitin (Kusumaningsih *et al.*, 2004)



Gambar 3. Struktur kitosan (Kusumaningsih *et al.*, 2004)

Kitosan merupakan senyawa yang tidak larut dalam air, larutan basa kuat, sedikit larut dalam HCl dan HNO<sub>3</sub>, dan H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, dan tidak larut dalam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Kitosan tidak beracun, mudah mengalami biodegradasi dan bersifat polielektrolitik. Kitosan dapat dengan mudah berinteraksi dengan zat-zat organik lainnya seperti protein (Sedjati, 2006). Pelarut kitosan yang baik adalah asam format dengan konsentrasi 0,2% sampai pekat, namun demikian kitosan sering dilarutkan pada asam asetat (Zahid, 2012).

Kitosan mempunyai reaktivitas tinggi daripada kitin karena memiliki gugus amina bebas yang bersifat nukleofil kuat. Gugus amina ini mudah terprotonasi

pada pH kurang dari 6,5 yang menjadikan kitosan bersifat kationik sehingga dapat berikatan dengan material bermuatan negatif seperti enzim, sel, polisakarida, asam nukleat, kulit, dan rambut (Marganov, 2003). Bentuk kitosan menurut Krissetiana (2004) ialah padatan amorf berwarna putih dengan struktur kristal tetap dari bentuk awal kitin murni. Bila disimpan lama dalam keadaan terbuka (terjadi kontak dengan udara) dimana akan terjadi dekomposisi, warnanya akan menjadi kekuningan dan viskositas larutan menjadi berkurang.

Senyawa kimia kitin dan kitosan bersifat hidrofobik dan memiliki reaktivitas kimia yang tinggi karena memiliki kandungan gugus OH dan gugus  $\text{NH}_2$  yang bebas serta ligan yang bervariasi (Prashanth dan Tharanathan, 2006). Oleh karena itu, kitosan memiliki kemampuan membentuk gel serta dapat berperan sebagai komponen yang reaktif, pengkelat, pengikat, pengabsorpsi, penstabil, pembentuk film, penjernih, flokulan dan koagulan (Shahidi 1999).

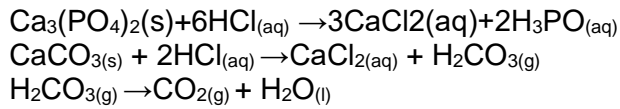
### **2.3.1 Proses Pembuatan Kitosan**

Proses pemurnian kitosan dilakukan dalam 4 tahap, yaitu demineralisasi, deproteinasi, dan deasetilasi. berikut ini adalah penjelasan masing-masing proses tahapan pembuatan kitosan :

#### **2.3.1.1 Demineralisasi**

Proses demineralisasi ini bertujuan untuk menghilangkan garam-garam anorganik atau kandungan mineral yang ada pada kulit udang. Kandungan mineral utamanya adalah  $\text{CaCO}_3$  dan  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  dalam jumlah kecil, mineral yang terkandung dalam kulit udang ini lebih mudah dipisahkan dibandingkan dengan protein karena hanya terikat secara fisik (Marganov, 2003). Proses yang terjadi pada tahap demineralisasi adalah mineral yang terkandung dalam kulit udang bereaksi dengan HCl sehingga terjadi pemisahan mineral dari kulit udang tersebut. Proses pemisahan mineral ditunjukkan dengan terbentuknya gas  $\text{CO}_2$

berupa gelembung udara pada saat larutan HCl ditambahkan dalam sampel (Hendry, 2008), sehingga penambahan HCl ke dalam sampel dilakukan secara bertahap agar sampel tidak meluap. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:



### 2.3.1.2 Deproteinasi

Kulit udang bebas mineral yang diperoleh dari tahap demineralisasi dilanjutkan dengan tahap deproteinasi. Proses ini bertujuan untuk memisahkan atau melepaskan ikatan-ikatan protein dari kitin. Pada tahap deproteinasi, protein yang terkandung dalam kulit udang larut dalam basa sehingga protein yang terikat secara kovalen pada gugus fungsi kitin akan terpisah. Penggunaan larutan NaOH dengan konsentrasi dan suhu yang tinggi semakin efektif dalam menghilangkan protein. Proses pengadukan dan pemanasan bertujuan untuk mempercepat pengikatan ujung rantai protein dengan NaOH sehingga proses degradasi dan pengendapan protein berlangsung sempurna (Austin, 1981).

### 2.3.1.1 Deasetilasi

Proses deasetilasi merupakan proses penghilangan gugus asetil (-COCH<sub>3</sub>) dari kitin dengan menggunakan larutan alkali agar berubah menjadi gugus amina (-NH<sub>2</sub>). Kitin mempunyai struktur kristalin yang panjang dengan ikatan hidrogen yang kuat antara atom nitrogen dan gugus karboksilat pada rantai bersebelahan (Muzzarelli, 1986). Pemutusan ikatan antara gugus asetil dengan gugus nitrogen sehingga berubah menjadi gugus amina (-NH<sub>2</sub>) perlu digunakan natrium hidroksida dengan konsentrasi 60% pada suhu 100-110°C selama 4 jam. Penggunaan larutan alkali dengan konsentrasi yang tinggi serta suhu tinggi selama proses deasetilasi dapat mempengaruhi besarnya derajat deasetilasi yang dihasilkan (Kim, 2004). Proses deasetilasi dalam basa kuat dan panas menyebabkan hilangnya gugus asetil pada kitin mengakibatkan kitosan

bermuatan positif sehingga dapat larut dalam asam organik seperti asam asetat ataupun asam formiat (Bastaman, 1989). Reaksi pembentukan kitosan dari kitin merupakan reaksi hidrolisis suatu amida oleh suatu basa. Kitin bertindak sebagai amida dan NaOH sebagai basanya. Mula-mula terjadi reaksi adisi, pada proses ini gugus-OH- masuk ke dalam gugus  $\text{NHCOCH}_3$  kemudian terjadi eliminasi gugus  $\text{CH}_3\text{COO}^-$  sehingga dihasilkan suatu amina yaitu kitosan (Mahatmanti, 2001).

### **2.3.2 Sumber dan Mutu Kitosan**

Sumber utama untuk produksi kitosan adalah kitin dan bahan baku yang digunakan untuk mengolahnya tersedia dalam jumlah yang cukup melimpah di Indonesia, terutama cangkang kepiting dan rajungan serta kulit udang (Muljana dan Irianto, 2011). Kerangka krustasei lainnya seperti lobster, eksoskeleton zooplankton laut, termasuk karang dan *jellyfish* juga mengandung kitin ataupun kitosan (Waty, 2012). Selain terdapat pada hewan laut, kitin juga ditemukan pada serangga, seperti kupu-kupu dan kepik yang juga memiliki kandungan kitin di sayap mereka, serta terdapat di dinding sel ragi dan jamur (Shahidi dan Abuzaytoun 2005).

Mutu kitosan dapat ditentukan berdasarkan parameter fisika dan kimia, parameter fisis diantaranya penampakan, ukuran (*mesh size*) dan viskositas, sedangkan parameter kimia yaitu nilai proksimat dan derajat deasetilasi (DD). Semakin baik mutu kitosan semakin tinggi nilai derajat deasetilasinya dan semakin banyak fungsinya dalam aplikasinya. Adapun standar spesifikasi mutu kitosan menurut Sholeh (1999) dapat dilihat pada Tabel 2.



Tabel 2. Standar mutu kitosan

Parameter	Persyaratan
Bentuk partikel	Serpihan ( <i>flake</i> ) atau bubuk ( <i>powder</i> )
Kadar air	≤ 10%
Kadar abu	≤ 2%
Warna larutan	Jernih
Derajat deasetilisasi	≥ 70%
Viskositas	
Rendah	< 200 cps ( <i>centipoises</i> )
Sedang	200 – 799 cps
Tinggi	800 – 2000 cps
Sangat Tinggi	>2000 cps

Sumber : Sholeh (1999)

### 2.3.3 Kitosan sebagai Bahan Antibakteri

Kitosan dan turunannya telah banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang misalnya dalam bidang pangan, mikrobiologi, pertanian, farmasi, dan sebagainya. Kitosan memiliki keunggulan, salah satunya adalah kemampuannya dalam menghambat dan membunuh mikroba atau sebagai zat antibakteri. Mekanisme kerja kitosan sebagai antibakteri adalah sifat afinitas yang dimiliki oleh kitosan yang sangat kuat dengan DNA mikroba sehingga dapat berikatan dengan DNA yang kemudian mengganggu mRNA dan sintesa protein (Hardjito 2006).

Kitosan kulit udang menurut Whitaker (1984) berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan antimikroba, karena mengandung enzim *lysosim* dan gugus *aminopolysacharida* yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Kemampuan dalam menekan pertumbuhan bakteri disebabkan kitosan memiliki polikation bermuatan positif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Kitosan menurut Sarjono *et al.* (2008) mengandung gugus amino bebas yang bermuatan positif sehingga dapat berikatan dengan senyawa lain yang mempunyai muatan negatif. Sebagai kation, kitosan mempunyai potensi untuk mengikat banyak komponen, seperti protein, pektin, alginat, dan polielektrolit

anorganik. Muatan positif dari gugus  $\text{NH}_3^+$  pada kitosan berinteraksi dengan muatan negatif pada permukaan sel bakteri, yaitu asam tekoat pada bakteri gram positif dan lipopolisakarida pada bakteri gram negatif. Interaksi ini akan mengganggu pembentukan peptidoglikan sehingga sel tidak mempunyai selubung yang kokoh dan mudah mengalami lisis sehingga aktivitas metabolisme akan terhambat dan pada akhirnya mengalami kematian. Selain itu, karena  $-\text{NH}_2$  juga memiliki pasangan elektron bebas, maka gugus ini dapat menarik mineral  $\text{Ca}^{2+}$  yang terdapat pada dinding sel bakteri dengan membentuk ikatan kovalen koordinasi (Jeon dan Kim, 2000).

Aktivitas antimikrobal kitosan menurut Chung *et al.* (2007), akan meningkat dengan kenaikan derajat deasetilasinya. Kitosan lebih efektif melawan bakteri dibanding terhadap fungi. Kitosan dengan derajat deasetilasi tinggi (95-98%) pada konsentrasi 50 – 200 ppm efektif untuk melawan bakteri *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shyella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae* dan *V. parahaemolyticus*. Berdasarkan hasil penelitian Khan *et al.* (2002), tingginya derajat deasetilasi (DD) menyebabkan semakin banyak jumlah gugus amina pada kitosan, sehingga jumlah gugus amina yang terprotonasi dalam kondisi asam juga meningkat dan akhirnya dapat larut sempurna, selain itu akan meningkatkan peluang kitosan berinteraksi dengan muatan negatif pada dinding sel mikroorganisme.

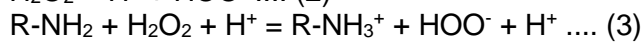
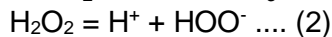
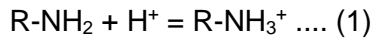
Kitosan dengan berat molekul tinggi (lebih besar dari 500 kDa) memiliki aktivitas antibakteri yang kurang efektif dibandingkan kitosan dengan berat molekul yang rendah. Hal ini terkait dengan viskositas kitosan yang besar pada kitosan dengan berat molekul yang tinggi, sehingga kitosan sulit berdifusi dan terjadi penumpukan pada permukaan sel mikroba (Yulina, 2011).

## 2.4 Kitosan Larut Air (*Water Soluble Chitosan*)

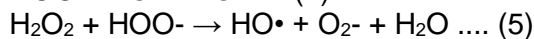
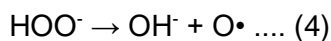
Kitosan adalah produk deasetilasi dari kitin yang telah banyak digunakan untuk bahan berbagai fungsi, termasuk biomaterial. Namun, penggunaannya dalam bidang biologis masih terbatas karena sifatnya yang tidak dapat larut dalam air dan hanya dapat dilarutkan dalam asam. Untuk meningkatkan kelarutan kitosan, terdapat beberapa metode, salah satunya metode menurut Yunzian *et al.* (2009), menggunakan  $H_2O_2$  yang berpotensi dalam mendegradasi kitosan kasar yang tidak larut dalam air menjadi kitosan yang larut dalam air. Faktor yang digunakan adalah konsentrasi  $H_2O_2$ , lama pemanasan dan suhu pemanasan menunjukkan efek yang signifikan terhadap kitosan yang larut dalam air. Kondisi yang paling optimal terdapat pada konsentrasi 5,5%  $H_2O_2$  dengan lama pemanasan 3,5 jam dan suhu yang digunakan adalah  $42,8^{\circ}C$ . Kondisi ini menghasilkan rendemen tertinggi yakni sebesar 93.5%.

Kelarutan merupakan salah satu karakteristik penting pada kitosan. Tingkat kelarutan pada kitosan dapat dipengaruhi oleh berat molekul kitosan yang tinggi yang menyebabkan kitosan susah larut selain pada larutan asam (Basmal *et al.*, 2007). Depolimerisasi kitosan merupakan proses yang dapat menurunkan berat molekul menggunakan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Depolimerisasi kitosan menggunakan  $H_2O_2$  menyebabkan pembentukan gugus-gugus karboksil dan mempercepat deaminasi (Qin *et al.*, 2002). Meningkatkan konsentrasi  $H_2O_2$ , suhu dan lama pamasan merupakan faktor utama dalam proses depolimerasi. Konsentrasi  $H_2O_2$  10% dengan suhu  $70^{\circ}C$  dan dipanaskan selama 4 jam, akan didapatkan berat molekul kitosan yang rendah yaitu sebesar 908,82 g/mol (Tanasale *et al.*, 2016). Pemutusan ikatan glikosidik pada kitosan merupakan tahapan utama dalam proses depolimerisasi. Radikal hidroksil dari hirogen peroksida akan menyerang ikatan glikosidik kitosan dan kemudian memutus rantainya (Li *et al.*, 2007). Proses depolimerisasi ini dipengaruhi oleh

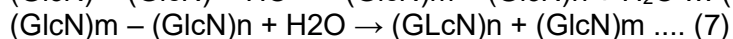
konsentrasi reaktan, suhu, tingkat kemurnian, derajat deasetilasi dan bobot molekul kitosan (Makhuuci, 2008). Mekanisme depolimerisasi kitosan dengan  $H_2O_2$  menurut Tian *et al.* (2004) yaitu diawali dengan suatu sistem kesetimbangan pada Persamaan (1) dan (2) serta reaksi total seperti Persamaan (3).



Anion  $HOO^-$  sangat tidak stabil dan sangat mudah terdekomposisi menjadi radikal hidroksil yang sangat reaktif (Persamaan 4 dan 5).



Radikal hidroksil adalah oksidator kuat. Aksi kimia utama  $HO^\bullet$  dengan suatu polisakarida adalah sangat cepat seperti pada Persamaan (6) dan (7). Radikal  $HO^\bullet$  menarik satu atom H dan membentuk air sehingga akan membentuk produk oksidasi larut air dengan bobot molekul rendah.

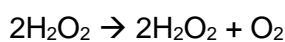


Metode lain juga untuk memperbaiki kelarutan kitosan adalah dengan cara karboksilasi. Karboksimetil kitosan merupakan turunan dari kitosan yang diperoleh dengan menyisipkan gugus karboksimetil pada rantai glukosamin. Penambahan gugus karboksimetil diketahui dapat menambah kelarutan kitosan karena bertambahnya muatan ioniknya. Hingga saat ini telah terdapat 4 jenis karboksimetil kitosan yaitu N-, O-, N-O dan N-N karboksimetil kitosan (Patale dan Patravale, 2011). Faktor yang mempengaruhi pembentukan karboksimetil kitosan (KMK) adalah kemurnian kitosan, kelebihan natrium hidroksida pada proses alkalisasi kitosan, rasio antara kitosan dan asam monokloroasetat serta suhu eterifikasi kitosan menjadi karboksi metil kitosan (Shahidi *et al.*, 1999).

## 2.5 Hidrogen Peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pertama kali diisolasi melalui reaksi barium peroksida dan asam nitrat oleh Louis Jacques Thenard pada tahun 1818. Proses ini digunakan untuk menghasilkan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sejak akhir abad ke-19 sampai pertengahan abad ke-20. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> murni ditemukan pertama kali oleh Richard Wolffenstein pada tahun 1894 melalui destilasi vakum. Nama lainnya adalah dioksida dihidrogen, dihidrogen dioksida, hidrogen dioksida atau dioksidan. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sangat melimpah di alam, terutama terbentuk oleh rangsangan cahaya matahari pada air dan ditemukan pada air hujan dan salju (Nindi, 2004).

Hidrogen peroksida menurut Campbell (2003) mempunyai sifat fisik: berat molar 34,0147 g/mol, densitas 4 g/cm<sup>3</sup> (cair), titik cair -110C (262,15K), titik didih 150,2°C (423,35K), keasaman (pKa) 11,65, viskositas 1,245cP pada suhu 20°C, dengan penampakan tidak berwarna dan tidak berbau. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> adalah oksidan yang lebih kuat dari klorin, klorin dioksida dan kalium permanganat. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> selalu terurai (dekomposisi) eksotermik menjadi air dan oksigen secara spontan dengan reaksi:



Proses ini sangat termodinamika. Faktor-faktor yang mendukung dekomposisi ini adalah peningkatan suhu (2,2 faktor meningkat setiap 10°C), peningkatan pH (khususnya pada pH>6-8), peningkatan kontaminasi (khususnya logam transisi seperti tembaga, mangan dan besi) sebagai katalisator, adanya stabilisator dan yang lebih kurang adalah pemaparan dengan sinar ultraviolet (Campbell, 2003).

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> adalah suatu senyawa yang iritan terhadap mata, membran mukosa dan kulit. Pemaparan singkat pada mata dapat mengakibatkan rasa perih dan mata berair, walaupun dengan konsentrasi 1-3%. Oleh karena itu, penggunaan dalam bidang kosmetik hanya diijinkan sebanyak maksimal 6% dan 3% untuk bidang farmasi (Campbell, 2003). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dapat digunakan untuk menghancurkan

serumen, mengobati telinga dengan krusta pada otitis eksterna dan membersihkan tuba ventilasi yang tersumbat. Namun demikian, perlu kehati-hatian dalam memberi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> untuk mengobati telinga dengan perforasi membran timpani (Perez, 2003).

## 2.6 Cairan Pembersih Tangan (*Hand Sanitizer*)

Gel pembersih tangan (*hand sanitizer*) merupakan gel yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri dalam menghambat hingga membunuh bakteri (Retnosari dan Isdiartuti 2006). *Hand sanitizer* merupakan salah satu bentuk antiseptik. Antiseptik merupakan zat yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme yang hidup di permukaan tubuh khususnya permukaan kulit (Afsar dan Khanam, 2016).

*Escherichia coli*, *Coliform* dan *Staphylococcus aureus* hidup pada permukaan kulit manusia dan makanan. *Escherichia coli* merupakan indikator adanya kontaminasi tinja dan dimungkinkan adanya mikroba enteropatogen dan atau toksigenik yang berbahaya bagi manusia (Chamsai *et al.*, 2009). Sedangkan mikroba pada tangan menurut Widmer (2000) dibagi menjadi dua kelompok yakni mikroba menetap dan sementara. Mikroba yang sudah menetap pada tangan misalnya *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Streptococcus viridians* yang dapat menjajah lapisan kulit lebih dalam dan memiliki sifat patogenik yang rendah. Mikroba sementara misalnya gram negatif *Staphylococcus aureus* yang dapat menjajah lapisan kulit yang luka dalam jangka pendek.

CDC (*Center for Disease Control and Prevention*) mengungkapkan bahwa pada dasarnya *hand sanitizer* terbagi menjadi dua berdasarkan bahan aktif yang terkandung, yaitu *hand sanitizer* dengan alkohol dan tanpa alkohol yang memiliki bahan aktif berupa agen antimikroba (Ramadhan, 2013). Kebanyakan *hand*

*sanitizer* menurut Kampf dan Ostermeyer (2005) mengandung alkohol. Alkohol dapat membunuh bakteri dengan cara merusak dinding sel dan mendenaturasi protein. Selain itu etanol juga dapat mencegah penyebaran mikroba dengan cara mengganggu metabolisme dan pertumbuhan sel. Namun *hand sanitizer* berbasis alkohol menurut Felix *et al.* (2015) harus mengandung paling sedikit 60% alkohol. Semakin tinggi konsentrasinya akan semakin efektif dalam membunuh mikroba, tetapi alkohol bersifat mudah menguap sehingga kemungkinan tidak dapat melindungi permukaan kulit dalam jangka waktu yang lama.

## **2.7 Bahan Penyusun *Hand Sanitizer***

Bahan penyusun hand sanitizer meliputi trietanolamin (TEA), gliserin, Polisorbat (tween 80), metal paraben, dan akuades.

### **2.7.1 Alkohol**

Alkohol adalah senyawa hidrokarbon berupa gugus hidroksil (-OH) dengan 2 atom karbon (C). Spesies alkohol yang banyak digunakan adalah  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  yang disebut metil alkohol (metanol),  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  yang diberi nama etil alkohol (etanol), dan  $\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$  yang disebut isopropil alkohol (IPA) atau propanol-2. Dalam dunia perdagangan yang disebut alkohol adalah etanol atau etil alkohol atau metil karbinol dengan rumus kimia  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  (Rama, 2008). Alkohol adalah salah satu dari sekelompok senyawa organik yang dibentuk dari hidrokarbon-hidrokarbon oleh pertukaran satu atau lebih gugus hidroksil dengan atom-atom hidrogen dalam jumlah yang sama (Dorland, 2002).

Alkohol banyak digunakan sebagai antiseptik/desinfektan untuk disinfeksi permukaan kulit tetapi tidak untuk luka. Alkohol sebagai disinfektan mempunyai aktivitas bakterisidal, bekerja terhadap berbagai jenis bakteri, tetapi tidak terhadap virus dan jamur (Sari dan Isadiartuti, 2006). Kemampuan antimikroba dari alkohol ini adalah dengan mendenaturasi protein mikroba dan aktifitas

antimikroba ini optimal bila diencerkan dengan air sekitar 60-95% (Ray *et al.*, 2011). Aktifitas antimikroba pada alkohol berpengaruh pada beberapa faktor, yaitu jenis alkohol yang digunakan, konsentrasi alkohol, waktu kontak, volume yang digunakan, dan keadaan tangan yang sedang menggunakan alkohol (Sandora *et al.*, 2009)

Turunan alkohol bekerja sebagai antiseptik dengan cara denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri. Senyawa alkohol dapat menimbulkan denaturasi protein sel bakteri dan proses tersebut memerlukan air. Hal ini ditunjang oleh fakta bahwa alkohol absolut, yang tidak mengandung air, mempunyai aktivitas antibakteri jauh lebih rendah dibanding alkohol yang mengandung air. Selain itu turunan alkohol juga menghambat sistem fosforilasi dan efeknya terlihat jelas pada mitokondria, yaitu pada hubungan substrat – nikotinamid adenine nukleotida (NAD) (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

### **2.7.2 Trietanolamin (TEA)**

Trietanolamin (TEA) ketika dicampur dengan asam lemak seperti asam stearate atau asam oleat jika digunakan secara luas dalam pembentukan emulsi. TEA digunakan sebagai bahan pengemulsi anionik. Pemakaian TEA dapat memproduksi emulsi minyak dalam air yang memiliki pH sekitar 8, homogen dan stabil. Konsentrasi yang biasa digunakan untuk emulgator adalah 1-4% dan dikombinasikan dengan asam stearate 2-5 kali TEA (Maulina, 2011).

Triethanolamin merupakan emulgator yang berfungsi menurunkan tegangan permukaan kedua cairan, sehingga bersifat sebagai surfaktan. Fungsi lain dari triethanolamin tersebut adalah menstabilkan tingkat pH, kelarutan dalam etanol adalah 95%, methanol, larut dalam air (Muryati dan Kurniawan, 2006).



### 2.7.3 Gliserin

Gliserin biasanya ditambahkan dalam formulasi dalam lotion dan kosmetik dengan tujuan sebagai humektan. Fungsi gliserin sebagai humektan adalah untuk mempertahankan tingkat kandungan air dalam produk dengan mengurangi penguapan air selama pemakaian, sehingga lebih mudah menyebar dan pembentukan kerak dalam wadah yang dikemas dapat dihindari (Rieger, 2000). Bahan ini sedikit larut dalam aseton, tidak larut dalam benzene dan kloroform, dapat bercampur dengan etanol dan methanol (Maulina, 2011). Komposisi gliserin yang digunakan pada formula berkisar 3-10%. Gliserin diperoleh dari hasil samping industri sabun atau asam lemak dari tanaman dan hewan (Mitsui, 1997).

### 2.7.4 Polisorbat (Tween 80)

Polisorbat 80 (Tween 80) adalah ester asam lemak polioksietilen sorbitan, dengan nama kimia polioksietilen 20 sorbitan monooleat. Rumus molekulnya adalah  $C_{64}H_{124}O_{26}$  (Rowe, 2009). Polyoxyethylene 80 sorbitan monooleat atau lebih dikenal sebagai Tween 80 merupakan cairan seperti minyak, jernih berwarna coklat muda hingga coklat muda, bau khas lemak, rasa manis dan hangat. Sangat mudah larut dalam air, larutan tidak berbau dan praktis tidak berwarna, larut dalam etanol, dalam etil asetat, tidak larut dalam minyak mineral, mempunyai bobot jenis antara 1,06 dan 1,09 dan kekentalan antara 300 dan 500 sentistokes pada suhu 25°C. Berat molekul tween 80 adalah 1310 (Wade dan Weller, 1994).

Kegunaan Tween 80 antara lain sebagai zat pembasah, emulgator, dan peningkat kelarutan (Rowe, 2009). Selain fungsi, fungsi tersebut, Tween 80 juga berfungsi sebagai peningkat penetrasi (Akhtar *et al.*, 2011). Tween 80 juga telah digunakan secara luas dalam bidang kosmetik, produk makanan, dan sediaan

farmasetika. Menurut WHO, pemakaian perhari untuk Tween maksimal 25 mg/kg BB (Rowe, 2009).

### **2.7.5 Metil Paraben**

Paraben yang sering digunakan dalam kosmetik adalah metil paraben dan propil paraben. Metil paraben berbentuk hablur kecil, tidak berwarna atau serbuk hablur, putih, tidak berbau atau berbau khas lemak, mempunyai sedikit rasa terbakar. Metil paraben sukar larut dalam air, benzene dan dalam karbon tetraklorida, tetapi mudah larut dalam etanol dan dalam eter (Puspaningdy, 2016). Struktur metil paraben yaitu  $C_8H_8O_3$  (Muflihah, 2016).

Metil paraben dalam formulasi farmasetika, terutama dalam kosmetik biasanya digunakan sebagai bahan pengawet. Bahan ini dapat digunakan sendiri maupun dikominasikan dengan paraben lain. Efektivitas pengawet ini memiliki rentang pH 4-8. Dalam sediaan lotion, konsentrasi yang umum digunakan adalah 0,02-0,3%. Bahan ini larut dalam air, etanol 95%, eter dan methanol (Maulina, 2011).

### **2.7.6 Aquades**

Air murni atau aquades adalah air yang dimurnikan dengan destilasi. Satu molekul air memiliki dua atom hidrogen kovalen terikat dengan satu atom oksigen. Aquades merupakan cairan yang jernih, tidak berwarna dan tidak berbau. Aquades juga memiliki berat molekul sebesar 18,0 g/mol dan PH antara 5-7. Rumus kimia dari aquades yaitu  $H_2O$ . Senyawa ini tidak berwarna, tidak berbau dan tidak memiliki rasa. Aquades merupakan elektrolit lemah. Air dihasilkan dari pengoksidasian hidrogen dan banyak digunakan sebagai bahan pelarut bagi kebanyakan senyawa (Basri, 2003).

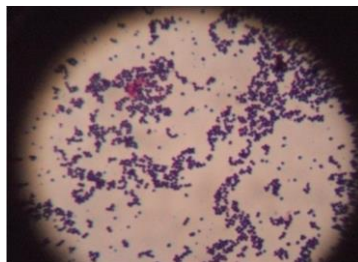
## 2.8 Bakteri Patogen

### 2.8.1 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif dengan diameter 0,5-1,0 mm, berbentuk serangkaian buah anggur, tidak membentuk spora dan tidak bergerak, berbentuk kokus, berkelompok, berpasangan dan kadang berantai pendek (Anonymous, 2015). *Staphylococcus aureus* hidup di suasana aerobik atau mikroaerofilik, tumbuh pada suhu 37°C namun dalam membentuk pigmen yang terbaik dibutuhkan suhu kamar (20-35°C). Pada biakan bakteri ini menghasilkan pigmen bewarna putih abu-abu sampai kuning (Brooks *et al.*, 2007).

Berdasarkan taksonomi ilmiah, klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut Sahputra (2014), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Eubacteria</i>
Filum	: <i>Firmicutes</i>
Kelas	: <i>Bacilli</i>
Ordo	: <i>Bacillales</i>
Famili	: <i>Staphylococcoceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>



Gambar 4. Bakteri *Staphylococcus aureus* (Toelle dan Lenda, 2014)

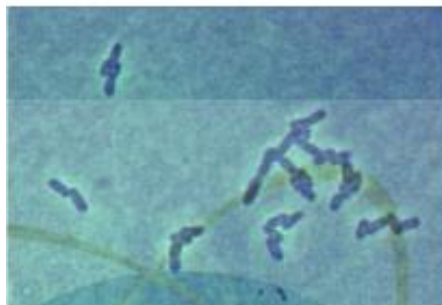
*Staphylococcus aureus* merupakan patogen utama pada manusia, karena mensekresikan beberapa toxin dan enzim yang berbahaya bagi manusia. Selain itu, bakteri ini terdapat dimana-mana seperti di benda-benda sekitar, saluran respirasi, kulit yang dapat berpindah-pindah secara kontak langsung maupun udara. Gejala yang ditimbulkan dari infeksi bakteri ini dapat berupa peradangan

local, nekrosis, dan pembentukan abses. Infeksinya dapat berupa furunkel ringan pada kulit, dan keracunan makanan (Soedarmo *et al.*, 2012).

### 2.8.2 *Escherichia coli*

*Escherichia coli* termasuk ke dalam bakteri gram negatif, motil, berflagel tipe peritrik berbentuk batang berukuran 1,1 - 1,5  $\mu\text{m}$  x 2- 6  $\mu\text{m}$ , dan tumbuh dengan baik pada media agar *MacConkey* (MAC). Bakteri ini tumbuh secara aerobik maupun anaerobik. Dapat memfermentasi semua D-glukosa, dan mayoritas memproduksi gas dari fermentasi sustratnya dan juga bisa memfermentasi karbohidrat (James, 2015). Berikut ini adalah taksonomi *Escherichia coli* menurut Jallaludin (2012) :

Kingdom : *Bacteria*  
Divisi : *Proteobacteria*  
Kelas : *Gamma Proteobacteria*  
Ordo : *Enterobacteriales*  
Familia : *Enterobacteriaceae*  
Genus : *Escherichia*  
Spesies : *Escherichia coli*



Gambar 5. Bakteri *Escherichia coli* (Sulaeman, 2015)

*Escherichia coli* mayoritas terdapat pada limbah dan air yang terkontaminasi oleh limbah. Karenanya infeksi sering terjadi saat tertelan makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh air yang tidak bersih. Beberapa kasus penyakit infeksi yang berhubungan dengan infeksi *Escherichia coli* adalah diare, septikemia, gastroenteritis, dan meningitis neonates, dan infeksi saluran kemih (Saroj dan Dipti, 2013). Bakteri *Escherichia coli* pada tubuh manusia dapat

tumbuh berlebihan jika mengonsumsi makanan yang terkontaminasi feces. Saat bakteri ini tumbuh berlebih maka bisa berubah sifatnya menjadi patogen. Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu rendah sekitar 7°C dan suhu tinggi sekitar 44°C, tetapi lebih optimal pada suhu 35<sup>o</sup>-37<sup>o</sup>C, pH optimum 7-7,5. Selain itu bakteri ini sensitif terhadap panas, dapat hidup di tempat lembab, dan akan mati pada proses pemasakan makanan dengan suhu relatif tinggi atau proses pasteurisasi (Motarjemi, 2006).

## **2.9 Metode Difusi Sumuran**

Metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksi dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang (Kusmiyati dan Agustini, 2007). Kelebihan metode sumuran adalah mudah dilakukan dan biaya relatif murah. Sedangkan kekurangannya adalah volume antara ekstrak/larutan uji dan media pertumbuhan harus steril serta suspensi bakteri harus tepat, lubang/sumur pada media harus diperhatikan ukuran dan kedalamannya, volume mikropipet yang digunakan harus dipastikan sesuai (Nurjannah, 2017).