

bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Nutrient Broth (NB)*, *Nutrient Agar (NA)*, alkohol 70%, spiritus, kertas pH universal dan akuades.

3.2. Cara Kerja

3.2.1. Pembuatan Larutan Kitosan

Larutan kitosan dibuat dengan menambahkan asam asetat 1N dalam serbuk kitosan, kemudian diaduk menggunakan magnetik stirer pada suhu kamar selama 6 jam.

3.2.3. Uji Antibakteri

a. Regenerasi Bakteri

Sebelum dipakai dalam uji antibakteri, bakteri yang akan dipakai diregenerasi terlebih dahulu. Langkah pertama yang dilakukan adalah membuat biakan agar miring yaitu menggoreskan biakan dari stok bakteri ke media *Nutrient Agar (NA)* miring yang masih baru. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Dari biakan tersebut diambil satu mata ose dan diinokulasikan ke erlenmeyer yang berisi kurang lebih 10 mL media *Nutrient Broth (NB)* steril. Selanjutnya diinkubasi di dalam inkubator bergoyang (*shaker*) selama 24 jam pada suhu ruang (Hidayanti, 2004).

b. Pengujian antibakteri

Larutan kitosan diuji dengan konsentrasi berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *B. Subtilis*, dan *S. Aureus*, secara *in vitro* (di luar sel). Cawan petri yang berisi media *Nutrient Agar* yang telah disterilisasi dan memadat diberi suspensi bakteri sebanyak 40 µL dan diratakan dengan menggunakan *spreader*. Cakram kertas berdiameter 0,55 cm dilewatkan di atas lampu bunsen (aseptik) kemudian cakram kertas tersebut dicelupkan

dalam larutan kitosan dan diletakkan pada permukaan media *NA* yang telah diinokulasi suspensi bakteri. Pada setiap cawan petri diletakkan cakram kertas dengan konsentrasi larutan kitosan yang berbeda. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk di sekeliling cakram diukur menggunakan penggaris (Brooks *et al.*, 2005; Gupte, 1990).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, bahan awal yang digunakan untuk pembuatan kitosan adalah limbah udang windu (*Penaeus monodon*). Udang windu mempunyai kandungan kitin yang tinggi dan ketersediaannya cukup terjaga. Kitin tersebut dapat ditransformasikan menjadi kitosan yang berpotensi menjadi agen antibakteri.

4.1 Pembuatan kitosan

Bahan yang digunakan sebagai bahan awal pembuatan kitosan adalah limbah kulit udang windu yang telah kering. Udang windu dipilih karena jenis udang ini banyak dibudidayakan di Indonesia dan mempunyai kandungan kitin yang cukup tinggi, yaitu sekitar 99,1 % (Prasetyo, 2006). Jika kitin yang diperoleh diolah lebih lanjut, maka diharapkan akan didapatkan bentuk transformasi berupa kitosan dalam jumlah yang relatif besar pula.

Kitin yang diperoleh dari hasil isolasi selanjutnya dideasetilasi menggunakan larutan NaOH 50 % dengan volume 250 mL. Proses ini dilakukan pada suhu 100-110°C disertai pengadukan terus menerus. Deasetilasi merupakan pengurangan gugus asetil pada kitin. Dimana gugus asetil akan digantikan oleh atom