

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Kitosan

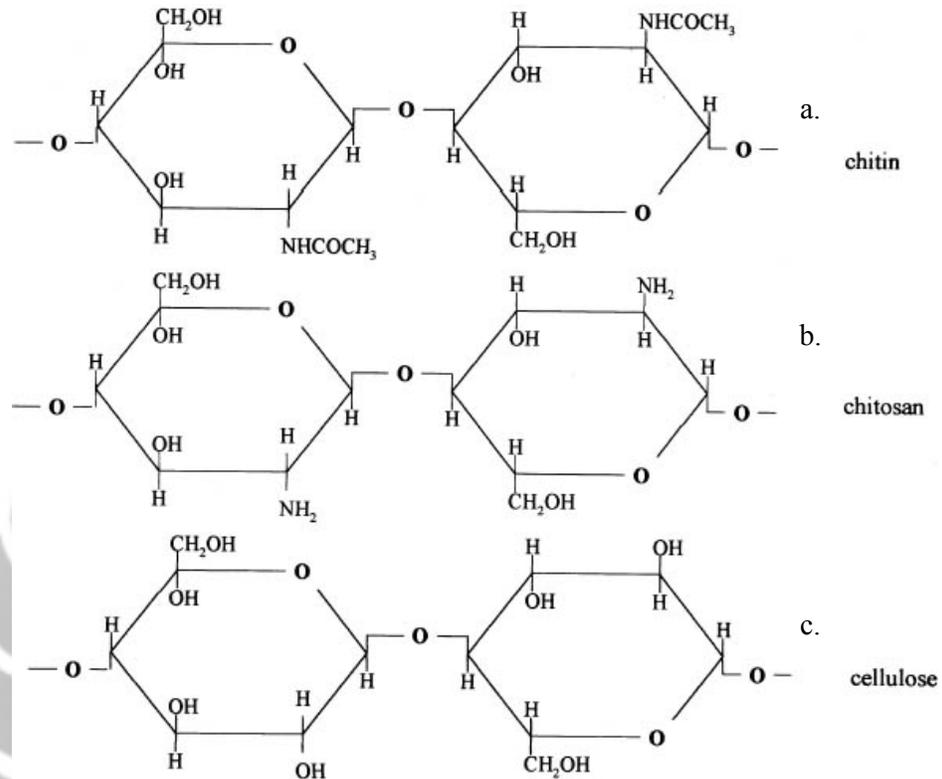
Kitosan adalah turunan kitin yang terdeasetilasi, merupakan produk yang mengandung polisakarida kedua terbanyak setelah selulosa pada tumbuhan.<sup>(1)</sup> Kitin terdistribusi dengan luas pada invertebrata laut, insekta, fungi dan ragi,<sup>(2)</sup> tetapi tidak terkandung pada tanaman dan hewan yang lebih tinggi tingkatannya. Berdasarkan penelitian Focher (1992), kulit udang mengandung protein (25% - 40%), kalsium karbonat (45% - 50%), dan kitin (15% - 20%), tetapi besarnya kandungan komponen tersebut tergantung pada jenis udangnya. Sedangkan kulit kepiting mengandung protein (15,60% - 23,90%), kalsium karbonat (53,70 – 78,40%), dan kitin (18,70% - 32,20%), hal ini juga tergantung pada jenis kepiting dan tempat hidupnya.<sup>(3)</sup>

##### 2.1.1 Struktur Kimia

Kitin dan kitosan mempunyai struktur kimia yang mirip. Kitin terdiri atas rantai linear gugus asetilglukosamina, sedangkan kitosan didapatkan dengan menyingkirkan gugus asetil ( $\text{CH}_3\text{-CO}$ ) kitin. Proses pembuangan gugus asetil ini disebut deasetilasi. Perbedaan antara kitin dan kitosan terletak pada kandungan polimernya.<sup>(4)</sup> Berat molekul, kemurnian, dan morfologi kristal kitin bergantung pada sumber kitin diambil.<sup>(5)</sup>

Kitosan adalah glukosamina (2-amino-2-deoksi- $\beta$ -D-glukosa) yang berikatan dengan polimer  $\beta$ -1,4 dan mengandung *N*-asetilglukosamina yang lebih sedikit. Kitosan dibentuk dengan proses deasetilasi kitin (poli-*N*-asetilglukosamina) yang merupakan produk sisa industri kepiting dan udang. Perbedaan antara kitin dan kitosan paling jelas adalah kitosan dapat larut pada asam asetat 1%, sedangkan kitin tidak larut.<sup>(6)</sup> Struktur ideal kitosan menyerupai struktur selulosa seperti terlihat pada gambar 2.1.

Selulosa adalah homopolimer sedangkan kitin dan kitosan adalah heteropolimer.<sup>(7)</sup>



Gambar 2.1: Struktur kimia dari (a) kitin (b) kitosan (c) selulosa

Sumber: Fouda MMG. Use of Natural Polysaccharides in Medical Textile Application.

Krefeld: University of Duisburg-Essen; 2005.

### 2.1.2 Sifat Kitosan

Kitosan merupakan polimer yang terurai secara alami dengan berat molekul tinggi dan tidak beracun dengan stuktur yang mirip dengan selulosa serat tanaman.<sup>(8)</sup> Kitosan adalah biopolimer yang mempunyai sifat yang menguntungkan seperti kemampuan antimikroba, biaya yang tidak mahal, biokompabilitas yang tinggi, biodegradabilitas, dan modifikasi kimia yang cukup mudah.<sup>(9)</sup>

Kitosan larut dalam mineral yang telah dicairkan atau asam organik yang mengandung grup amino bebas dengan pH di bawah 6,5. Asam

asetat dan asam format sering digunakan secara luas untuk penelitian dan aplikasi kitosan. Beberapa asam organik yang dapat melarutkan kitosan terdapat pada Tabel 2.1. Secara umum, sifat kelarutan kitin dan kitosan menurun seiring dengan peningkatan berat molekul.

Tabel 2.1: Kelarutan kitosan dalam asam organik

Sumber: Fouda MMG. Use of Natural Polysaccharides in Medical Textile Application. Krefeld: University of Duisburg-Essen; 2005.

Acids	Concentration of chitosan used				
	1 %	5 %	10 %	50 %	> 50 %
Acetic	+	+	+		
Adipic	+				
Citric	-	+	+		
Formic	+	+	+	+	+
Lactic	+	+	+		
Malic	+	+	+		
Malonic	+	+	+		
Oxalic	+		+		
Propionic	+	+	+	+	
Succinic	+	+	+		
Tartaric	-		+		

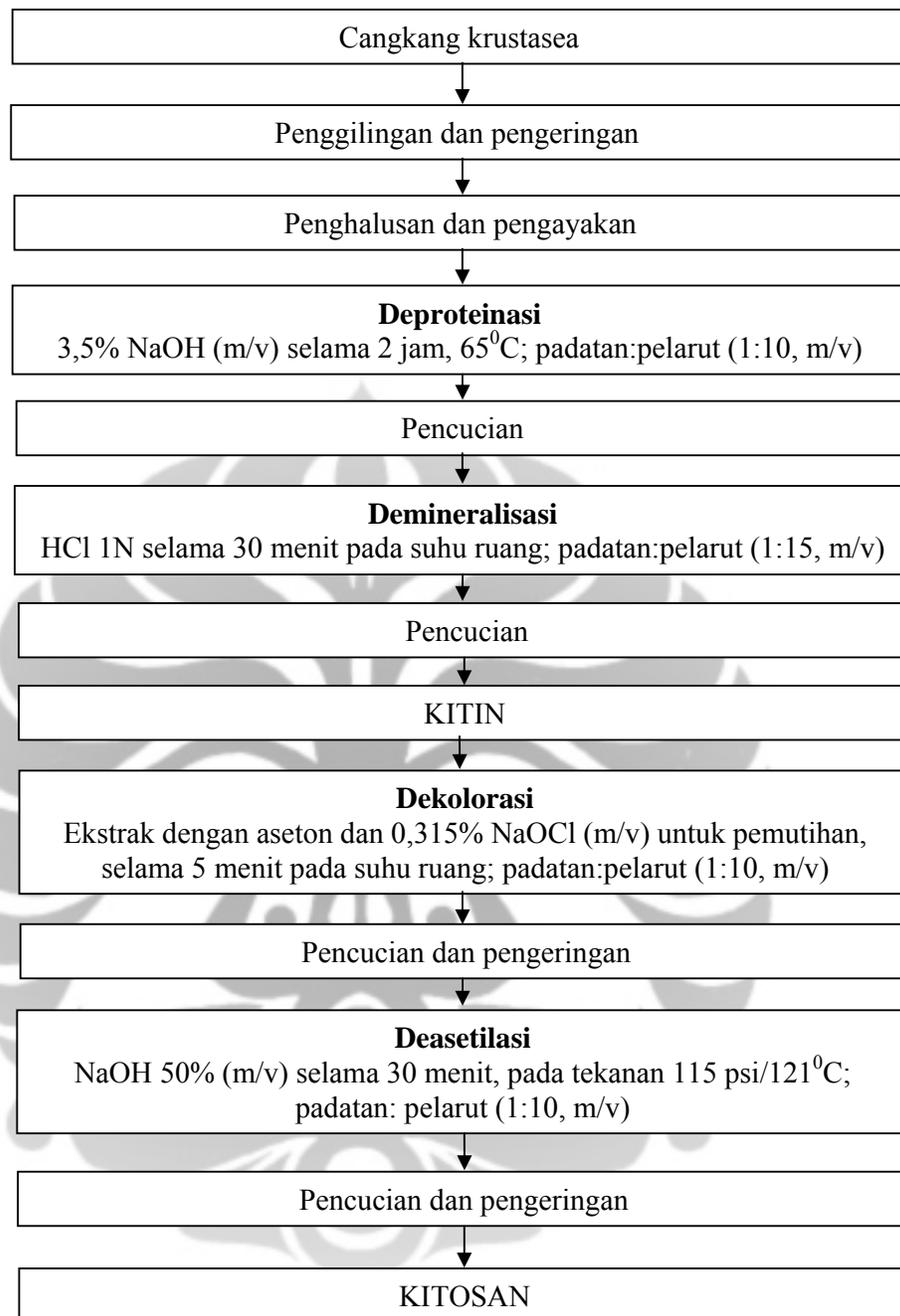
Table 1: Solubility of chitosan in organic acids [25] (+, soluble; -, insoluble)

### 2.1.3 Pembuatan Kitosan

Cangkang krustasea kering mengandung 20~30% kitin. Isolasi kitosan dari limbah cangkang krustasea terdiri dari empat tahap dasar, yaitu deproteinasi untuk pemisahan protein, demineralisasi untuk pemisahan kalsium karbonat, dekolorasi untuk pemisahan pigmen, dan deasetilasi untuk pembuangan gugus asetil. Kitin dapat diisolasi dari limbah cangkang krustasea dengan dua tahap dasar, yaitu deproteinasi dan demineralisasi. Kedua tahap ini dapat dilakukan dengan urutan yang terbalik.<sup>(52)</sup>

Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi derajat deasetilasi kitosan, yaitu, konsentrasi alkali, temperatur, dan suhu reaksi. Menurunkan konsentrasi alkali dapat meningkatkan waktu yang dibutuhkan dalam pembuatan kitosan, sehingga menyebabkan peningkatan persentase derajat deasetilasi dan penurunan berat molekul kitosan. Kitosan dengan derajat deasetilasi yang tinggi diproduksi dengan menggunakan natrium hidroksida (40-50%) pada suhu 100<sup>0</sup>C atau lebih tinggi dengan perbandingan konsentrasi:zat pelarut 1:15 selama 30 menit atau lebih lama.<sup>(52)</sup>





Gambar 2.2 Proses Pembuatan Kitosan

Sumber: Seo S-w. Depolymerization and Decolorization of Chitosan by Ozone Treatment. Louisiana: Louisiana State University and Agricultural dan Mechanical College; 2006.

#### 2.1.4 Aktivitas Anti Mikroba Kitosan

Kitosan mempunyai aktivitas anti bakteri dan anti jamur yang tinggi.<sup>(10)</sup> Aktivitas anti mikroba kitosan melawan berbagai macam bakteri dan jamur telah banyak diketahui dan telah dilaporkan oleh beberapa penulis.<sup>(11-15)</sup>

Kitosan bersifat anti mikroba terhadap berbagai organisme dengan jangkauan luas, tetapi secara umum ragi dan jamur adalah kelompok yang paling sensitif terhadap kitosan, disusul oleh bakteri gram positif dan terakhir oleh bakteri gram negatif. Kendra dan Hadwiger (1984) telah melakukan percobaan pada ragi *Saccharomyces cerevisiae* yang berada di roti dan menunjukkan penghambatan proses fermentasi oleh  $3.6 \text{ mg L}^{-1}$  kitosan di dalam sistem buffer. Aktivitas kitosan lain juga diperlihatkan terhadap pertumbuhan ragi *Fusarium solani* yang dihambat oleh  $4 \text{ mg L}^{-1}$  kitosan dalam medium cair.<sup>(16)</sup>

Penelitian Sudarshan (1992), Fang SW (1994), Tsai GJ (1999), Helander M (2001), dan Hwang JK (1998) menyebutkan bahwa mekanisme penghambatan kitosan terhadap mikroba adalah interaksi dari muatan positif kitosan dengan muatan negatif pada permukaan sel fungi dan bakteri yang menyebabkan perluasan permukaan sel dan mengubah permeabilitas dinding sel.<sup>(13, 15, 17-19)</sup> Fouda (2005) dalam penelitiannya juga menyebutkan bahwa perubahan permeabilitas dinding sel ini menyebabkan kebocoran substansi intraseluler seperti elektrolit, material penyerap UV, protein, asam amino, glukosa, dan enzim laktat dehidrogenase. Hasilnya, kitosan menghambat metabolisme normal mikroorganisme dan menyebabkan kematian sel.<sup>(7)</sup>

Xiao Fang Li (2008) memperkuat teori anti mikroba tersebut dengan menyatakan perubahan permeabilitas membran dinding sel *Candida albicans* menyebabkan kebocoran substansi intraseluler yang penting bagi metabolisme normal sel seperti ion kalsium. Ion kalsium dan mineral lain juga dibutuhkan oleh *Candida albicans* untuk berubah menjadi bentuk hifa yang lebih patogen.<sup>(20)</sup>

Aksi anti mikroba dari kitosan dipengaruhi oleh beberapa faktor intrinsik dan ekstrinsik seperti berat molekul, derajat deasetilasi, pH dan temperatur.

a. Berat Molekul

Shimojoh dkk. (1996) melaporkan bahwa aktivitas anti mikroba kitosan sangat bergantung pada berat molekul dari kitosan.<sup>(21)</sup> Hasil penelitian menunjukkan bahwa berat molekul kitosan yang lebih rendah (di bawah 10 kDa) mempunyai efek antimikroba yang lebih efektif.<sup>(22)</sup>

b. Derajat Deasetilasi

Menurut beberapa penulis, aktivitas anti mikroba kitosan berhubungan langsung dengan derajat deasetilasinya.<sup>(21, 23, 24)</sup> Kitosan yang lebih terdeasetilasi lebih bersifat anti mikroba daripada kitosan yang lebih banyak mengandung grup asam amino yang terasetilasi karena peningkatan solubilitas dan tingkat kepekatan yang lebih tinggi.<sup>(25)</sup>

Menurut Khan, dkk (2002) derajat deasetilasi mempengaruhi efek anti mikroba kitosan. Derajat deasetilasi menentukan banyaknya grup asetil yang dibuang sehingga menyisakan grup amino (-NH<sub>2</sub>) murni pada kitosan. Ada beberapa cara untuk menaikkan atau menurunkan derajat deasetilasi kitosan. Sebagai contoh, peningkatan temperatur dan penambahan konsentrasi larutan sodium hidroksida dapat memperbanyak grup asetil yang dibuang. Derajat deasetilasi kitosan bergantung sepenuhnya pada metode purifikasinya.<sup>(26)</sup>

c. pH

Aktivitas anti mikroba kitosan sangat dipengaruhi oleh pH.<sup>(12, 17, 18, 23, 27)</sup> Tsai dan Su (1999) meneliti aktivitas anti mikroba kitosan (DD 0.98) melawan *E.coli* dengan nilai pH yang berbeda-beda mulai dari pH 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0. Aktivitas anti mikroba terbesar terlihat pada pH 5.0 dan menurun seiring dengan peningkatan pH

dan kitosan mempunyai aktivitas anti mikroba paling rendah pada pH 9.0.<sup>(18)</sup>

d. Temperatur

Suhu yang lebih tinggi (37°C) meningkatkan aktivitas anti mikroba kitosan.<sup>(14)</sup>

## 2.2 *Candida albicans*

*Candida albicans* merupakan salah satu flora normal gram positif yang bersifat oportunistik dan dapat ditemukan pada individu sehat maupun sakit. Pada keadaan normal, terjadi keseimbangan antara jamur dan bakteri dalam rongga mulut, tetapi jika terjadi gangguan sistem homeostatik, maka dapat timbul keadaan patologis berupa infeksi jamur atau bakteri. Infeksi jamur yang paling sering ditemukan oleh dokter gigi adalah kandidiasis dalam mulut (Gambar 2.2).



Gambar 2.3: Kandidiasis lidah

Sumber: Cawson RA. *Essentials of Dental Surgery and Pathology*. 5<sup>th</sup> ed. London. ELBS. 1995. p. 326-331

*Candida albicans* adalah tipe fungus diploid yang merupakan agen penyebab utama dari infeksi mulut dan genital. Secara taksonomi, *Candida albicans* merupakan mikroorganisme yang termasuk dalam kingdom Myceteae (fungi), divisi Eumycophyta, subdivisi Deuteromycotina, kelas Deuteromycetes, sub kelas Blastomycetidae (*yeast* tak sempurna), famili Cryptococcaceae, subfamily Candidoidea, dan genus *Candida*.<sup>(28)</sup>

### 2.2.1 Karakteristik

*Candida albicans* biasanya berbentuk bola atau oval dan membentuk tunas sel *yeast* dengan ukuran 3-5  $\mu\text{m}$  x 5-10  $\mu\text{m}$  dan disebut juga dengan blastopora tetapi berbeda dengan spora bakteri secara umum.<sup>(29)</sup>

### 2.2.2 Virulensi Jamur *Candida*

Faktor virulensi *Candida* yang menentukan adalah dinding sel. Dinding sel berperan penting karena merupakan bagian yang berinteraksi langsung dengan sel pejamu. Dinding sel *Candida* mengandung zat yang penting untuk virulensinya, antara lain turunan mannoprotein yang mempunyai sifat immunosupresif sehingga mempertinggi pertahanan jamur terhadap imunitas pejamu. *Candida* tidak hanya menempel, namun juga melakukan penetrasi ke dalam mukosa. Enzim proteinase aspartil membantu *Candida* pada tahap awal invasi jaringan untuk menembus lapisan mukokutan yang berkeratin.<sup>(30,31)</sup>

Faktor virulensi lain adalah sifat dimorfik *Candida*, bahkan sebagian peneliti menyatakan sifatnya yang pleomorfik. Dua bentuk utama *Candida* adalah bentuk ragi dan bentuk *pseudohifa* yang juga disebut sebagai miselium. Dalam keadaan patogen, *C. albicans* lebih banyak ditemukan dalam bentuk miselium atau *pseudohifa* atau filamen dibandingkan bentuk spora. Bentuk hifa mempunyai virulensi yang lebih tinggi dibandingkan bentuk spora karena ukuran yang lebih besar sehingga sulit untuk difagositosis oleh sel makrofag.<sup>(31)</sup>

### 2.2.3 Dinding Sel *Candida albicans*

Dinding sel *Candida albicans* merupakan struktur kompleks yang mengandung komponen mayor, karbohidrat (80-90%), dan komponen minor, protein (6-25%) dan lemak (1-7%). Lapisan dalam dinding sel tersebut terdiri atas  $\beta$ -Glukan dan kitin.  $\beta$ -Glukan merupakan komponen utama dinding sel, meliputi 47-60% berat dinding selnya. Walaupun kitin hanya meliputi 0,6-9% dari berat dinding sel, zat ini merupakan komponen

penting dalam hubungan antar sel dalam cincin antara sel induk dan tunasnya, dalam *bud scar*, dan dalam septa antara kompartemen sel independen.<sup>(32)</sup>

Lapisan luar dinding sel *C. albicans* terdiri dari mannoprotein yang terdiri dari polimer mannose, berupa monosakarida. Mannoprotein mengandung karbohidrat yang berpengaruh dalam menghambat kerja sistem imun inang. Mannoprotein dinding sel berhubungan dengan senyawa  $\beta$ -1,3-glukan-kitin, dan  $\beta$ -1,6-glukan. Sel hifa mengandung kitin tiga kali lebih banyak daripada sel ragi.<sup>(33)</sup>

#### 2.2.4 Kandidiasis

Kandidiasis adalah penyakit yang disebabkan terutama oleh jamur *Candida albicans*, yang merupakan flora normal dalam rongga mulut, saluran pencernaan dan vagina orang sehat.<sup>(34)</sup>

Infeksi *Candida* dalam mulut dibagi menjadi enam kategori berdasarkan gambaran klinis dan perjalanan penyakitnya, yaitu:<sup>(35)</sup>

- a. Kandidiasis pseudomembran akut (*thrush*)  
Merupakan infeksi *Candida* yang paling sering terjadi dalam rongga mulut.
- b. Kandidiasis atrofik akut  
Bentuk umum kandidiasis ini adalah *antibiotic sore mouth*.
- c. Kandidiasis atrofik kronik  
Kandidiasis ini meliputi *denture sore mouth (denture stomatitis)* dan *angular cheilitis*.
- d. Kandidiasis hiperplastik kronik  
Kandidiasis ini meliputi variasi kondisi klinis berupa invasi miselium ke lapisan mukosa dan kulit yang lebih dalam.
- e. Kandidiasis multifokal kronik  
Pasien dapat hadir dengan banyak area kandidiasis atropik kronik.
- f. Kandidiasis mukokutaneus kronik

Infeksi ini ditandai dengan adanya lesi mukokutaneus yang hiperplastik, granuloma lokal, dan plak putih yang melekat pada permukaan mukosa yang terkena.

### 2.3 Kerangka Teori

