

**UJI ANTIBAKTERI SUBMIKRO PARTIKEL
*CHITOOLIGOSACCHARIDE TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli* SECARA IN VITRO***

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Farmasi (S.Farm) di bidang studi Farmasi pada Fakultas
MIPA**



**Oleh :
ROPIANA PURWANINGSIH
08061181722013**

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2021**

HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL

Judul Makalah Hasil : UJI ANTIBAKTERI SUBMIKRO PARTIKEL
CHITOOLIGOSACCHARIDE TERHADAP
Staphylococcus aureus DAN Escherichia coli
SECARA IN VITRO

Nama Mahasiswa : ROPIANA PURWANINGSIH

NIM : 08061181722013

Jurusan : FARMASI

Telah dipertahankan dihadapan Pembimbing dan Pembahas pada Seminar Hasil di Jurusan Farmasi Fakultas Matematikan dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 21 Oktober 2021 serta telah diperbaiki, diperiksa dan disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 25 Oktober 2021

Pembimbing:

1. Dr. Miksusanti, M.Si.
NIP. 196807231992032003

(.....)


2. Dina Permata Wijaya, M.Si., Apt.
NIP. 199201182019032023

(.....)


Pembahas:

1. Elsa Fitria Apriani, M.Farm., Apt.
NIP. 199204142019032031

(.....)


2. Laida Neti Mulyani, S.Si., M.Si.
NIP. 198504262015042002

(.....)


HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Makalah Hasil :UJI ANTIBAKTERI SUBMIKRO PARTIKEL
CHITOOLIGOSACCHARIDE TERHADAP
Staphylococcus aureus DAN Escherichia coli SECARA
IN VITRO

Nama Mahasiswa : ROPIANA PURWANINGSIH

NIM : 08061181722013

Jurusan : FARMASI

Telah dipertahankan dihadapan Pembimbing dan Pembahas pada Ujian Sidang Skripsi di Jurusan Farmasi Fakultas Matematikan dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 18 November 2021 serta telah diperbaiki, diperiksa dan disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 29 November 2021

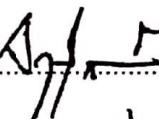
Ketua:

1. Dr. Miksusanti, M.Si.
NIP. 196807231992032003

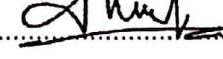
(..... 

Anggota:

2. Dina Permata Wijaya, M.Si., Apt.
NIP. 199201182019032023

(..... 

1. Elsa Fitria Apriani, M.Farm., Apt.
NIP. 199204142019032031

(..... 

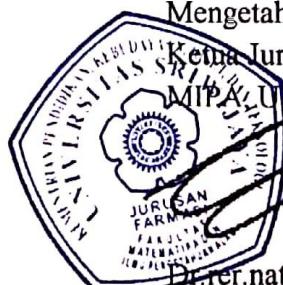
2. Laida Neti Mulyani, S.Si., M.Si.
NIP. 198504262015042002

(..... 

Mengetahui,

Ketua Jurusan Farmasi Fakultas
MIPA UNSRI

Dr. rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.
NIP. 197103101998021002



PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama Mahasiswa : Ropiana Purwaningsih

NIM : 08061181722013

Fakultas/Jurusan : MIPA/Farmasi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar keserjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain. Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Indralaya, 30 November 2021

Penulis,



Ropiana Purwaningsih

NIM. 08061181722013

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Ropiana Purwaningsih
NIM : 08061181722013
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan
Alam/Farmasi Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “hak bebas royalti non-ekslusif: (*non-exclusively royalty-freeright*) atas karya ilmiah saya yang berjudul: “Uji Antibakteri Submikro Partikel *Chitooligosaccharide* Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschirichia coli* Secara In Vitro” beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak bebas royalti non-ekslusif ini, Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalihmedia/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, 30 November 2021

Penulis,



Ropiana Purwaningsih

NIM. 08061181722013

HALAMAN PERSEMPAHAN DAN MOTTO

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

(Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang)

Skripsi ini saya persembahkan kepada ayah, ibu, kakak-kakak dan adik-adikku tersayang, seluruh keluarga yang aku sayangi , dan para sahabat seperjuanganku Farmasi Unsri 2017, serta Almamaterku

“Allah tidak akan membebani seseorang melainkan sesuai dengan kadar kesanggupannya” (Q.S Al-Baqarah: 286)

“Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi (pula) kamu menyukai sesuatu, padahal ia amat buruk bagimu, Allah mengetahui, sedangkan kamu tidak mengetahui” (Q.S Al-Baqarah: 216)

“Sesungguhnya jika kamu bersyukur, niscaya Aku akan menambah (nikmat) kepadamu, tetapi jika kamu mengingkari (nikmat-Ku), maka pasti azab-Ku sangatberat” (Q.S Ibrahim: 7)

“Jika harapan adalah sebuah impian, maka ketenanganlah yang dibutuhkan untuk mencapainya”

“Kesulitan bukan untuk ditangisi tapi untuk dihadapi dengan kesabaran dan keyakinan bahwa kamu mampu melaluinya”

“Prayer clears the mist and brings back peace to the soul. Every morning, every evening let the heart sing, La ilaha il Allah. There is no reality but God”

Motto:

“Ekspektasi tanpa eksekusi adalah halusinasi”

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhanahu wa Ta‘ala karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulis akhirnya dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “**Uji Antibakteri Submikro Partikel Chitooligosaccharide Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara In Vitro**” Shalawat beserta salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi besar Muhammad Shallallahu ‘alaihi Wasallam. Penyusunan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini, penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Allah SWT, Atas berkat rahmat dan kehendak-Nya penulis dapat menyelesaikan studi, dan berkat bantuan-Nya juga penulis tetap sehat wal-afiat hingga saat ini.
2. Kedua orang tuaku, Ayah (Suyatno) dan Ibu (Maryanti) yang teramat aku cintai. Terkhususnya Ayah terima kasih sudah menjadi ayah terbaik dan *superhero* ku. Dan untuk Ibu terima kasih sudah menjadi Ibu terhebat, penyabar, penguat dan *wonder woman* ku. Terima kasih untuk Ayah dan Ibu telah menguatkan, memotivasi, mendukung serta selalu mendoakanku disetiap sujudmu hingga aku sampai dititik ini. Tanpa kalian aku bukanlah apa-apa, dan karna kalian aku bisa menyelesaikan studi.
3. Kedua Kakaku (Purwoko dan Sri Purwanti) dan kedua Kakak iparku (Tutik Guswanti dan Agus Riyanto), terima kasih sudah selalu mendukung, mendoakan, serta membantu dalam hal apapun untuk penulis menyelesaikan perkuliahan.
4. Keponakanku (Fanesa, Fankha, Danar dan Dinar) terima kasih sudah hadir dalam hidup penulis yang memberikan canda tawa kepada penulis yang menjadikan motivasi agar cepat menyelesaikan perkuliahan.
5. Bapak Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt., selaku Ketua Program Studi Farmasi atas sarana dan prasarana yang telah diberikan kepada penulis

sehingga penulisan skripsi ini berjalan dengan lancar.

6. Ibu Dr. Miksusanti, M.Si. selaku dosen pembimbing skripsi pertama dan Ibu Dina Permata Wijaya., M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing skripsi kedua yang bersedia meluangkan waktu dan kesabarannya untuk membimbing penulis. Terima kasih atas nasihat, motivasi, ilmu dan saran yang sangat membantu dari tahap penggerjaan proposal, penelitian, hingga akhirnya skripsi ini terselesaikan.
7. Ibu Elsa Fitria Apriani, M.Farm., Apt. dan Ibu Laida Neti Mulyani, S.Si., M.Si. selaku dosen pembahas Terima kasih atas masukan dan saran yang telah diberikan kepada penulis selama penyusunan skripsi ini.
8. Ibu Herlina, M.Kes., Apt. selaku dosen pembimbing akademik atas semua dukungan dan nasihat yang telah diberikan kepada penulis selama perkuliahan.
9. Seluruh dosen Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, atas ilmu, saran, dan nasihat yang telah diberikan kepada penulis selama perkuliahan dan selama penyusunan skripsi ini.
10. Seluruh staf analis laboratorium Jurusan Farmasi (Kak Tawan, Kak Isti, Kak Fitri) yang sudah sangat membantu penulis menyelesaikan penelitian dan dengan sabar meminjamkan alat dan bahan yang penulis butuhkan.
11. Seluruh staf administrasi Jurusan Farmasi (Kak Ria dan Kak Erwin) yang sudah banyak membantu terkhusus mengenai legalisasi surat-menjurut yang dibutuhkan selama proses penyelesaian skripsi ini.
12. Rekan seperjuangan penelitian Submikro Partikel *Chitooligosaccharide* Dheta Umi Cahya yang telah banyak membantu selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini. Menemani penulis dalam pernyusunan skripsi ini selama suka dan duka. Berjuang dan belajar bersama mengenai kesulitan yang ditemukan dalam proses penggerjaan skripsi. Terima kasih atas waktu dan semua bantuannya. Terima kasih juga sudah menjadi pendengar yang baik dan selalu sabar menghadapi sifat penulis.
13. Sahabat seperjuangan di Farmasi, OMLET FARM (Puspa Yunita, Ghina Raudya, Hibsah, Siti Nurhaliza, Fadila Kurnia, Dheta Umi Cahya, Nurkholid,

Prantara Ardi, beserta Gladys) beruntung telah dipertemukan dengan manusia random seperti kalian yang telah menghibur disaat lelahnya menghadapi perkuliahan di Farmasi. Terima kasih telah menjadi teman selama perkuliahan ini, menjadi tempat belajar dan bermain, mendengarkan keluh kesah penulis, mengerti dan memaklumi tingkah penulis, menasehati dan memberi masukan, dan bantuan selama masa perkuliahan dan penggerjaan skripsi. Semangat untuk kita semua, *See you on top guys.*

14. Yufa dan Athip Terima kasih atas saran, canda tawa yang menjadi hiburan penulis di kala penat dan motivasinya agar penulis bisa menyelesaikan skripsi dan perkuliahan ini serta terima kasih sudah menjadi pendengar disaat penulis mengutarakan keluh kesah. Terkhusus Athip terima kasih sudah menjadi sahabat dari awal masuk kuliah hingga saat ini.
15. Teman seperjuangan Farmasi angkatan 2017 terutama kelas A retjeh (Farmasi 17 A) yang tetap kompak mulai dari awal perkuliahan sampai saat ini. Terima kasih atas canda tawa yang diberikan kepada penulis selama masa perkuliahan ini.
16. Kakak asuh (apt. Livina Tasia G, S.Farm) dan adik asuh (Alm. Kurnia Aprianti) Terima kasih karena selalu memberikan bantuan dan dukungan agar penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
17. Kakak kakak farmasi angkatan 2013, 2014, 2015, dan 2016 Terima kasih atas bantuaanya selama masa perkuliahan dan telah berbagai pengalaman selama masa perkuliahan ini. Adik Adik farmasi 2018, 2019, dan 2020 yang juga mendoakan dan membantu.
18. Sahabat sedari kecil yang penulis sayangi (Vika, Liana dan Sulis) terimakasih sudah selalu mendoakan dan mensuport penulis dari keadaan suka maupun duka, dan yang selalu mendengarkan keluh kesah penulis hingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
19. No Pance Club (Kurniawati, Nurbaiti dan Umy Alfiah) terima kasih telah menemani dan membantu penulis dari keadaan suka maupun duka, yang selalu siap mendengarkan curhatan penulis, yang memberikan nasehat dan motivasi kepada penulis untuk selalu kuat, dan yang selalu mau untuk direpotkan. Kalian yang terbaik.

20. Sahabat sahabat tersayangku, Tika Yuliana Pratiwi, Dike Herawati, Lusi Lestiwati, dan Febri Widya Astuti Terima kasih atas canda tawa yang telah menghibur penulis, mendoakan, mensuport penulis dari keadaan suka maupun duka, dan yang selalu mendengarkan keluh kesah penulis hingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
21. Semua pihak yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak bisa disebut satu persatu.
22. *Last but not least*, terima kasih kepada diriku sendiri yang telah bertahan sampai dititik ini dan tidak pernah menyerah dalam keadaan apapun, ***I did it.***
Semoga Allah Subhanahu wa Ta‘ala memberikan balasan yang berlipat ganda kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan. Penulis sangat berharap kritik dan saran yang membangun dari pembaca untuk perbaikan selanjutnya. Hanya kepada Allah Subhanahu wa Ta‘ala penulis menyerahkan segalanya, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan seluruh pembaca.

Inderalaya, 30 November 2021
Penulis,



Ropiana Purwaningsih
NIM. 08061181722013

Antibacterial Assay of Submicro Particles *Chitooligosaccharide* Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* In Vitro

**Ropiana Purwaningsih
08061181722013**

ABSTRACT

Chitooligosaccharide is a derivative of chitosan resulting from the deacetylation of chitin and it has been widely reported that *Chitooligosaccharide* has been shown to have biological activity as an antibacterial. The purpose of this research is to make a submicroparticle formulation of *Chitooligosaccharide* using sodium alginate polymer. Variations in concentration of sodium alginate were carried out to determine the characteristics of the resulting *Chitooligosaccharide* submicroparticles. This research begins with the preparation of materials followed by the manufacture of *Chitooligosaccharide* submicroparticles. Ionic gelation method was chosen in the manufacture of submicroparticles with components consisting of Chitooligosaccharide, sodium alginate and CaCl₂ as a crosslinker using variations of sodium alginate 1.6; 3.2 and 4.8 mg. The best formula submicroparticles were characterized by PSA to determine the particle size. The best formula for submicroparticles has a percent encapsulation efficiency of 90.72% with a particle size characteristic of 556.8 nm; PDI value is 0.540 and zeta potential is +36.1 mV. The FTIR spectra of submicroscopic *Chitooligosaccharide* particles did not show new peak formation or peak reduction, meaning that there was no chemical interaction between *Chitooligosaccharide* and sodium alginate. So that *chitooligosaccharide* can be formulated in the preparation of submicroparticles with sodium alginate polymer. Furthermore, antibacterial testing was carried out by the agar diffusion method with disc paper. The results showed that 0.5% *Chitooligosaccharide* Submicroparticles had antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* with inhibition zones of 21 ± 1 mm (very strong zone) and 26 ± 2 mm (very strong zone).

Keywords: Antibacterial Activity, *Chitooligosaccharide*, FTIR, Sodium Alginate, Submicroparticles.

**Uji Antibakteri Submikro Partikel *Chitooligosaccharide* Terhadap
Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli* Secara In Vitro**

**Ropiana Purwaningsih
08061181722013**

ABSTRAK

Chitooligosaccharide adalah senyawa turunan dari kitosan hasil proses deasetilasi kitin dan telah banyak dilaporkan bahwa *chitooligosaccharide* terbukti mempunyai aktivitas biologis sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini untuk membuat formulasi submikro partikel *Chitooligosaccharide* menggunakan polimer natrium alginat. Variasi konsentrasi dari natrium alginat dilakukan untuk mengetahui karakteristik submikro partikel *Chitooligosaccharide* yang dihasilkan. Penelitian ini diawali dari preparasi bahan dilanjutkan dengan pembuatan submikro partikel *Chitooligosaccharide*. Metode gelasi ionik dipilih dalam pembuatan submikro partikel dengan komponen yang terdiri dari *Chitooligosaccharide*, natrium alginat dan CaCl₂ sebagai *crosslinker* menggunakan variasi natrium alginat 1,6; 3,2 dan 4,8 mg. Submikro partikel formula terbaik di karakterisasi dengan PSA untuk mengetahui ukuran partikel. Formula terbaik submikro partikel memiliki persen efisiensi enkapsulasi sebesar 90,72% dengan karakteristik ukuran partikel 556,8 nm; nilai PDI 0,540 dan zeta potensial +36,1 mV. Spektra FTIR submikro partikel *chitooligosaccharide* tidak menunjukkan terbentuknya puncak baru ataupun pengurangan puncak, artinya tidak terdapat interaksi kimia antara *chitooligosaccharide* dengan natrium alginat. Sehingga *chitooligosaccharide* dapat diformulasikan dalam sediaan submikro partikel dengan polimer natrium alginat. Selanjutnya, pengujian antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar dengan kertas cakram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Submikro Partikel *Chitooligosaccharide* 0,5% memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan masing-masing zona hambat sebesar 21 ± 1 mm (zona sangat kuat) dan 26 ± 2 mm (zona sangat kuat).

Kata kunci: Aktivitas Antibakteri, *Chitooligosaccharide*, FTIR, Natrium Alginat, Submikro partikel

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL	ii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRACT	xi
ABSTRAK	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 <i>Chitooligosaccharide</i>	6
2.1.1 Produksi <i>Chitooligosaccharide</i> Dari Kitosan	10
2.1.1.1 Hidrolisis Kimiawi	10
2.1.1.2 Metode Enzimatis	10
2.1.2 Aktivitas Antimikroba <i>Chitooligosaccharide</i>	11
2.2 Teknologi Partikel	12
2.2.1 Bahan Pembuatan Partikel	14
2.2.1.1 Natrium Alginat	14
2.2.1.2 Kalsium Klorida	16
2.2.2 Metode Gelasi Ionik	16
2.2.3 Persen Efisiensi Enkapsulasi	17
2.2.4 Karakterisasi Partikel	18
2.2.4.1 <i>Dynamic Light Scattering</i>	18
2.2.4.2 Zeta Potensial	19
2.2.4.3 <i>Fourier Transform Infrared (FTIR)</i>	20
2.3 Bakteri Uji	20
2.3.1 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	20
2.3.2 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	21
2.4 Senyawa Antibakteri dan Sifatnya	22
2.5 Mekanisme Antibakteri	24
2.6 Uji Aktivitas Antibakteri	25
2.6.1 Metode Difusi	25
2.6.1.1 Metode Kertas Cakram	25
2.6.1.2 Teknik Silinder	26

2.6.1.3 Metode Lubang (Perforasi)	26
2.6.2 Metode Dilusi	26
BAB III METODE PENELITIAN	27
3.1 Waktu dan Tempat	27
3.2 Alat dan Bahan.....	27
3.2.1 Alat	27
3.2.2 Bahan	27
3.3 Bakteri Uji.....	28
3.4 Tahapan Penelitian	28
3.4.1 Formula	28
3.4.2 Preparasi Bahan	28
3.4.2.1 Preparasi <i>Chitooligosaccharide</i>	28
3.4.2.2 Preparasi Natrium Alginat.....	29
3.4.2.3 Preparasi Kalsium Klorida	29
3.4.3 Pembuatan Submikro Partikel <i>Chitooligosaccharide</i>	29
3.4.4 Purifikasi Submikro Partikel dan Penentuan Persen Efisiensi Enkapsulasi (%EE)	30
3.4.5 Karakterisasi Submikro Partikel.....	31
3.4.5.1 Penentuan Ukuran Partikel, <i>Poly Dispersity Index</i> dan Zeta Potensial	31
3.4.5.2 <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR)	31
3.4.6 Aktivitas Antibakteri.....	31
3.4.6.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	31
3.4.6.2 Pembuatan Media	32
3.4.6.2.1 Media <i>Nutrien Agar</i> (NA)	32
3.4.6.2.2 Media <i>Mueller Hinton Agar</i> (MHA)	32
3.4.6.3 Inokulasi Bakteri Uji.....	32
3.4.6.4 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji	32
3.4.6.5 Uji Aktivitas Antibakteri.....	33
3.4.7 Analisis Data	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1 Preparasi Bahan Submikro.....	35
4.2 Pembuatan Submikro Partikel <i>Chitooligosaccharide</i>	36
4.3 Penentuan Persen Efisiensi Enkapsulasi (%EE)	38
4.3.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	38
4.3.2 Pembuatan Kurva Kalibrasi	38
4.3.3 Pembuatan Persen EE	39
4.4 Evaluasi dan Karakterisasi Formulasi Terbaik Submikro Partikel	
4.4.1 Ukuran Partikel dan <i>Poly Dispersity Index</i>	42
4.4.2 Zeta Potensial	44
4.4.3 <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR)	46
4.5 Aktivitas Antibakteri	48
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	54
5.1 Kesimpulan	54
5.2 Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN	65

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Komposisi Formula Submikro Partikel	28
Tabel 2. Kelompok Perlakuan Uji Aktivitas Antibakteri	33
Tabel 3. Hasil Persen Efisiensi Enkapsulasi.....	40
Tabel 4. Hasil Pengukuran PSA	43
Tabel 5. Interpretasi Spektrum FTIR	47
Tabel 6. Kriteria Diameter Antibakteri	48
Tabel 7. Hasil uji aktivitas antibakteri <i>Chitooligosaccharide</i> terhadap bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	49

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur Kitin.....	7
Gambar 2. Struktur Kitosan.....	7
Gambar 3. Struktur <i>Chitooligosaccharide</i>	7
Gambar 4. Struktur Natrium Alginat	15
Gambar 5. Ilustrasi Gelasi Ionik.....	17
Gambar 6. <i>Staphylococcus aureus</i>	21
Gambar 7. <i>Escherichia coli</i>	22
Gambar 8. Ilustrasi Sediaan Submikro Partikel <i>Chitooligosaccharide</i>	37
Gambar 9. Grafik Nilai Persen Efisiensi Enkapsulasi	41
Gambar 10. Spektra FTIR Submikro Partikel <i>Chitooligosaccharide</i> , <i>Chitooligosaccharide</i> dan Alginat	46
Gambar 11. Grafik Uji Aktivitas Antibakteri.....	52

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Skema Kerja Umum	65
Lampiran 2. Preparasi Bahan Submikro Partikel	66
Lampiran 3. Pembuatan Submikro Partikel	67
Lampiran 4. Sertifikat Analisis <i>Chitooligosaccharide</i>	68
Lampiran 5. Sertifikat Analisis Natrium Alginat.....	69
Lampiran 6. Sertifikat Analisis Kalsium Klorida	70
Lampiran 7. Perhitungan Bahan	71
Lampiran 8. Proses Pembuatan Submikro Partikel	72
Lampiran 9. Submikro Partikel <i>Chitooligosaccharide</i>	73
Lampiran 10. Skema Persen Efisiensi Enkapsulasi	74
Lampiran 11. Penetapan Kurva Baku <i>Chitooligosaccharide</i>	75
Lampiran 12. Penentuan Persen Efisiensi Enkapsulasi	78
Lampiran 13. Analisis Statistik Penentuan Persen Efisiensi Enkapsulasi	79
Lampiran 14. Karakterisasi Submikro Partikel <i>Chitooligosaccharide</i>	80
Lampiran 15. Hasil Pengukuran Ukuran Partikel dan PDI	81
Lampiran 16. Hasil Pengukuran Zeta Potensial	82
Lampiran 17. Hasil FTIR	83
Lampiran 18. Skema Uji Antibakteri.....	84
Lampiran 19. Sertifikat <i>S. aureus</i>	85
Lampiran 20. Sertifikat <i>E. coli</i>	86
Lampiran 21. Hasil Uji Antibakteri	87
Lampiran 22. Analisis Statistik Uji Antibakteri	89

DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	: <i>Analysis Of Variance</i>
API	: <i>Aqua Pro Injection</i>
COS	: <i>Chitooligosaccharide</i>
CV	: <i>Coefficient of Variation</i>
mV	: <i>Milivolt</i>
DLS	: <i>Dynamic Light Scattering</i>
EE	:Efisiensi Enkapsulasi
kHz	: <i>Kilohertz</i>
LSD	: <i>Least Significant Difference</i>
Nm	: <i>Nano Meter</i>
PDI	: <i>Poly Dispersity Index</i>
PSA	: <i>Particle Size Analyzer</i>
P-value	: <i>Probability Value</i>
R	: <i>Regresi</i>
RPM	: <i>Rotation Per Minute</i>
SD	: <i>Standard Deviation</i>
Sig	: <i>Signifikansi</i>
SPSS®	: <i>Statistical Package for teh Social Sciences</i>
UV-Vis	: <i>Ultraviolet-Visible</i>
°C	:Derajat Celcius

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kitosan merupakan heteropoli-sakarida linier derivat dari kitin, tersusun dari ikatan β -1,4-D-glukosamin (GlcN) dan N-asetit-D-glukosamin (GlcNAc) dengan proporsi yang bervariasi (Cabrera & Cutsem, 2005). Kitosan dapat dimanfaatkan sebagai polimer pada proses pembuatan sediaan partikel, kitosan juga bisa digunakan sebagai *gelling agent*, *adhesive agent*, eksipien, disintegrant, antimikroba dan antikolesterol (Imtihani *et al.*, 2020). Kitosan larut dalam asam tetapi kitosan memiliki kelarutan dalam air yang buruk (Arifin *et al.*, 2011). Oleh karena itu, penelitian tentang kitosan lebih banyak diarahkan pada produksi kitosan yang larut dalam air, salah satu diantaranya adalah *chitooligosaccharide* (COS).

Chitooligosaccharide adalah senyawa turunan dari kitosan hasil proses deasetilasi kitin dan merupakan senyawa kompleks golongan glikoprotein yang memiliki ikatan 1,4 glukosamin dan mampu bersifat antimikroba. Telah banyak dilaporkan bahwa *chitooligosaccharide* terbukti mempunyai aktivitas biologis antara lain sebagai antibakteri, stimulan kekebalan tubuh dan antitumor (Kumar *et al.*, 2005). Produksi *chitooligosaccharide* yang memenuhi tuntutan fungsi biologisnya sangat tergantung pada derajat deasetilasi dan panjang rantainya. *Chitooligosaccharide* dengan panjang rantai 4 (tetramer) memiliki aktivitas antibakteri terkuat dibanding polimer kitosan (Chung *et al.*, 2004; Chasanah *et al.*, 2008).

Kumar dan Kittur (2005) menguji aktivitas antibakteri *chitooligosaccharide* terhadap *Staphylococcus aureus* (bakteri gram positif) dan *Escherichia coli* (bakteri gram negatif). Hasil penelitian menunjukkan bahwa *chitooligosaccharide* memiliki efek penghambatan pertumbuhan yang lebih baik terhadap kedua bakteri tersebut dibandingkan kitosan. Menurut penelitian Fernandes *et al.* (2008) menyatakan bahwa efek penghambatan *chitooligosaccharide* dengan konsentrasi yang berbeda mulai dari 0,1%, 0,25% dan 0,5% memiliki efek penghambatan meningkat dengan peningkatan konsentrasi. Sehingga pada penelitian ini digunakan konsentrasi terbaik yaitu 0,5%.

Chitooligosaccharide, sebagai agen antibakteri karena dapat mengganggu struktur dinding / membran. Oligomer kationik dapat "merekatkan" sel yang bermuatan negatif dan menyebabkan pembentukan kelompok bakteri besar, yang dapat menghalangi transportasi nutrisi sel bakteri dan akhirnya mengakibatkan lisis sel (Kumar *et al.*, 2005). Sehingga perlu dilakukan pembuatan sediaan submikro partikel, karena suatu bahan yang diformulasikan dengan teknologi partikel dapat memodifikasi sistem penghantaran sehingga mampu menembus ruang-ruang antar sel yang hanya dapat ditembus oleh ukuran partikel koloidal dengan kemampuannya yang lebih tinggi untuk menembus dinding sel (Buzea *et al.*, 2007). Submikro partikel memiliki ukuran 200 – 500 nm sebagaimana telah dianjurkan dan diperbolehkan dalam bidang farmasi (Reis *et al.*, 2006).

Magani *et al.* (2020) meneliti uji aktivitas antibakteri sediaan nanopartikel kitosan dengan rata-rata ukuran partikel 451,4 nm, hasilnya menyatakan bahwa pada kelompok nanopartikel kitosan zona hambat yang dihasilkan lebih besar

dibandingkan kelompok yang tidak dibuat sediaan nanopartikel, kedua kelompok uji ini menggunakan konsentrasi yang sama. Zona hambat yang dihasilkan nanopartikel kitosan terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* masing-masing sebesar 12,31 mm dan 15,88 mm. Sedangkan pada sampel yang tidak dibuat sediaan partikel hanya menghasilkan zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* masing-masing sebesar 9,15 mm dan 10,20 mm. Apabila suatu zat aktif yang dibentuk suatu nanopartikel efektivitasnya semakin baik dibanding yang tidak dibentuk nanopartikel.

Pembuatan submikro partikel dapat menggunakan bahan polimer seperti kitosan, gelatin, albumin, dan natrium alginat (Delie and Blanco, 2005). Polimer yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu natrium alginat. Polimer ini dipilih sebagai bahan enkapsulasi karena natrium alginat memiliki sifat khas yaitu daya mucoadhesive paling besar jika dibandingkan dengan polimer lain seperti polistiren dan kitosan (Thwala, 2010). Natrium alginat juga dapat melindungi zat aktif dari gangguan kondisi lingkungan dan menyediakan pelepasan enkapsulant yang terkontrol (Anbinder, 2011).

Umumnya dalam pembuatan submikro partikel diperlukan penambahan kalsium klorida untuk menurunkan tegangan permukaan (Muhamimin, 2013). Kalsium klorida bekerja sebagai *crosslinker* akan berikatan sambung silang dengan natrium alginat dan dapat menggantikan ion natrium pada natrium alginat dengan ion kalsium untuk memperkuat polimer yang melapisi sediaan submikro partikel (Hasanzadeh *et al.*, 2011). Kalsium klorida yang digunakan dalam penelitian ini digunakan volume 20 µL (Moradhaseli *et al.*, 2013)

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai uji aktivitas antibakteri *chitooligosaccharide* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dalam sediaan submikro partikel. Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dipilih karena bakteri yang umum terdapat di lingkungan sekitar kita dan merupakan bakteri terbanyak yang sering mencemari sediaan pada umumnya. Bakteri *Staphylococcus aureus* menyebabkan infeksi kulit sedangkan *Escherichia coli* termasuk bakteri yang dapat menyebabkan diare (Brooks *et al.*, 2007).

Penentuan formula terbaik dilakukan dengan cara menentukan persen efisiensi enkapsulasi (%EE) dari submikro partikel. Formula terbaik kemudian digunakan untuk mengetahui karakter submikro partikel yang dihasilkan, melalui analisis ukuran partikel, pengukuran zeta potensial, dan *poly dispersity index* (PDI), serta untuk pengujian aktivitas antibakteri yang dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan maka didapat beberapa rumusan masalah antara lain:

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi natrium alginat terhadap persen efisiensi enkapsulasi (%EE) submikro partikel *chitooligosaccharide*?
2. Berapa nilai ukuran partikel, PDI, dan zeta potensial formulasi terbaik sediaan submikro partikel *chitooligosaccharide*?
3. Bagaimana aktivitas antibakteri submikro partikel *chitooligosaccharide* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram kertas?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan memiliki beberapa tujuan, yakni:

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi natrium alginat terhadap persen efisiensi enkapsulasi (%EE) submikro partikel *chitooligosaccharide*.
2. Menentukan nilai ukuran partikel, PDI, dan zeta potensial formulasi terbaik submikro partikel *chitooligosaccharide*.
3. Menentukan aktivitas antibakteri submikro partikel *chitooligosaccharide* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram kertas.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi pada penelitian selanjutnya dalam mengembangkan senyawa antibakteri dalam produk farmasi, kosmetik dan makanan. Serta memperluas pemahaman mengenai submikro partikel *chitooligosaccharide* dan mengetahui konsentrasi natrium alginat untuk menghasilkan formulasi submikro partikel terbaik.

DAFTAR PUSTAKA

- Aam, B. B., Heggset, E. B., Norberg, A. L., Sorlie, M., Varum, K.M., and Eijsink, V.G.H. 2010, Production of chitooligosaccharides and their potential applications in medicine, *Marine Drugs*, **8(5)**:1482–1517.
- Afriani Y, Fadli A, Maulana S, Karina I. 2016. Sintesis , Kinetika reaksi dan aplikasi kitin dari cangkang udang, *Skripsi*, Universitas Riau. Pekanbaru Riau.
- Ahkam, M. 2011, Sintetis dan Karakterisasi membran nanozeolit Y untuk aplikasi pemisahan gas metanol-ethanol, *Skripsi*, S.Si., Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok, Jakarta.
- Akhtar, F., Rizvi, MM., and Kar, SK., 2012, Oral delivery of curcumin bound to chitosan nanoparticles cured *Plasmodium yoelii* infected mice, *Biotechnology Advances*, **30(1)**: 310-20.
- Allan, C.R. & Hadwiger, L.A. 1979, The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition, *Experimental Mycology*, **3(3)**:285–87.
- Allen, L.V., Popovich, N.G. & Ansel, H.C. 2011, *Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems*, 9th edition, Lippincott Williams & Wilkins, London, United Kingdom.
- Amataram, P. 2008, Effect of core and surface cross-linking on the entrapment of metronidazole in pectin beads, *J Acta Pharm*, **58**: 78-85.
- Anbinder, P.S., Deladino, L., Navarro, A.S., Amalvy, J.I., & Martino, M.N. 2011, Yerba mate extract encapsulation with alginate and chitosan systems: interactions between active compound encapsulation polymers, *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences*, **1**,80-87.
- Anggraini, Y. 2019, Standarisasi dan uji aktivitas antibakteri ekstrak daun tekelan (*Chromolaena odorata*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus acidophilus*, *Skripsi*, S.Farm., Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indonesia.
- Arai, K., Minumari, K. & Fujita, T. 2010, On the toxicity of chitosan, *Reg. Fish Lab*, Tokai:889–892.
- Arifin, Z., Irawan,D. & Rahim, M. 2011, *Produksi kitosan berbasis limbah udang delta Mahakam: Tinjauan dan proses*, Interpena, Yogyakarta, Indonesia.
- Barkir. 2011, Pengembangan Biosintesis Nanopartikel Menggunakan Air Rebusan Daun Bisbul (*Diospyros Blancoi*) untuk Deteksi Ion Tembaga (II) dengan Metode Kolorimetetri, *Skripsi*. FMIPA Universitas Indonesia, Jakarta.

- Birnbaum, D.T. and Brannon-Peppas, L. 2004, ‘*Microparticle drug delivery systems*’, in Brown, D.M. (Ed.): Drug Delivery Systems in Cancer Therapy, pp.117–135, Totowa, Humana Press.
- Brooks, G.F., Butel, J.S., & Morse, S.A. 2007, Mikrobioloogi kedokteran, EGC. Jakarta, Indonesia.
- Buzea, C., Blandino, I.I.P. & Robbie, K. 2007, Nanomaterial and nanoparticles: sources and toxicity, *Biointerphase*, **2**:170-172.
- Cabrera, J.C., Cutsem, P.V. 2005, Preparation of chitooligosaccharides with degree of polymerization higher than 6 byacid or enzymatic degradation of chitosan, *Biochemical Engineering Journal* **25**:165-172.
- Chasanah, E., Meidina, and Suhartono, M.T. 2008, Antibacterial potency of chitosan oligomer produced by *Bacillus licheniformis* MB-2 chitosanase, *Indonesian Fisheries Research Journal*, **14(2)**: 91– 95.
- Chithrani, D.B. 2011, Optimization of bio-Nano interface using gold nanostructures as a model nanoparticle system, *Inj Sci J*, **1(3)**: 115-135.
- Choi, Y.J. et al. 2004, Purification and characterization of chitosanase from *Bacillus sp*, strain KCTC 0377BP and its application for the production of chitosan oligosaccharides, *Applied and Environmental Microbiology*, **70(8)**:4522-4531.
- Chung, Y.-C. et al. 2004, Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall, *Acta Pharmacologica Sinica*, **25**:932-36.
- Daemi, H., & Barikani, M. 2012, Synthesis and characterization of calcium alginate nanoparticles, sodium homopolymannuronate salt and its calcium nanoparticles. *Scientia Iranica*, **19:6**, 2023-2028.
- Delie, F. dan Blanco, P.M.J., 2005, Polymeric Particulates to Improve Oral Bioavailability of Peptide Drugs, *Molecules*, **10(1)**: 65-80.
- Delmonda, V. B., Mardiyanto, M., & Rennie, P. N. 2020, Preparasi dan Karakterisasi Submikro Partikel Kitosan-Alginat Pembawa Ekstrak Etanol Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus lam.*) Dengan Variasi Waktu Sonikasi, *Skripsi*, S.Farm., Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Inderalaya, Indonesia.
- Deviarny, C., Henny, L., & Safni. 2012, Uji Stabilitas Kimia Natrium Askorbil Fosfat dalam Mikroemulsi dan Analisisnya dengan HPLC, *Jurnal Farmasi Andalas Padang*, **1(1)**.
- Dzen & M., S. 2003, Bakteriologik Medik, *Bayumedia*, Malang.
- Ekambaram, G., P. Rajendran, V., Magesh and D. Sakthisekaran. 2008, *Naringenin reduces tumor size and weight lost in N-methyl-N-nitro-*

- Nnitrosoguanidine-induced gastric carcinogenesis in rats*, Nutr. Res., 28:106-112.
- Fachrurrazie. 2012, ‘Mikroenkapsulasi ibuprofen tersalut poli(asam laktat)-lilin lebah dengan pengemulsi poli (vinil alkohol)’, Skripsi, S.Si., program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
- Fernandes, J.C. et al. 2008, Antimicrobial effects of chitosans and chitooligosaccharides, up on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, *Food Microbiology*, 25(7):922-928.
- Gee, G.W. and Or, D., 2002, Particle Size Analysis. In: Dane, J.H. and Topp, G.C., Eds., Methods of Soil Analysis, Part 4, Physical Methods, *Soils Science Society of America*, Book Series No. 5, Madison, 255-293.
- Ghasemi, A. & Zahediasl, S. 2012, Normality tests for statistical analysis: A guide for non-statisticans, *Int J Endocrinology Metabolism*, 10(2): 486 – 489.
- Hartati, A.S., Nurhidayati, A. & Handayani, D. 2013, Potensi Chitooligosaccharide (COS) Sebagai Probiotik dan Pengawet Alami Dalam Pembuatan Tahu Sinbiotik, *Skripsi*, Fakultas Teknik Universitas Wahid Hasyim Semarang, ISBN 978-602-99334-2-0.
- Hasanzadeh, K.M., Mohammad, K., Mobina, K. & Sahar, K. 2011, Chitosan reinforcement of nanoparticles obtained by an ionic cross-linking process, *Iranian Polymer Journal*, 20(5):445-456.
- Honary S, Zahir F. 2013, Effect of Zeta Potential on the Properties of Nano-Drug Delivery Systems - A Review (Part 1), *Trop J Pharm Res*, 12(2).
- Horowitz, S. T., Roseman, S., and Blumenthal, H. J. 1957, *The preparation of glucosamine oligosaccharides*. I. Separation. *J. Am. Chem. Soc.* 709, 5046-5049.
- Imtihani, H. N., Wahyuono, R. A., & Permatasari, S. N. 2020, Biopolimer kitosan dan penggunaannya dalam formulasi obat, *Penerbit Graniti*.
- Jafari, H., Delporte, C., Bernaerts, K. V., De Leener, G., Luhmer, M., Nie, L., & Shavandi, A. 2021, Development of marine oligosaccharides for potential wound healing biomaterials engineering, *Chemical Engineering Journal Advances*, 7, 100113.
- Jawetz., Ernest, L., Joseph., Melnick, & Edward, A. 1996, Mikrobiologi Kedokteran, *EGC*, Jakarta.
- Jawetz M., Adelberg's. 2005, Mikrobiologi Kedokteran, edisi 23, Penerbit Buku Kedokteran, *ECG*, Jakarta.

- Jayakumar, R., Prabaharan, M., Nair, S.V. & Tamura, H. 2010, Novel chitin and chitosan nanofibers in biomedical applications, *Biotechnol. Adv.*, **28**:142-150.
- Jeon, Y. J., & Kim, S. K. 2000, Production of chitooligosaccharides using an ultrafiltration membrane reactor and their antibacterial activity, *Carbohydrate Polymers*, **41**(2), 133-141.
- Jiang, Y., Fu, C., Wu, S., Liu, G., Guo, J., & Su, Z. 2017, Determination of the deacetylation degree of chitooligosaccharides, *Marine drugs*, **15**(11), 332.
- Julianti, F., Citra, D.A., Nirwani, B., Nurmasitoh, T. & Bowo, E.T. 2007, Manfaat sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai agen antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif, *JKKI*, **2**(3):1–10.
- Jyothi, N.V.N., Muthu. P. P., Suhas, N. S., Surya, K. P., Seetha, P. R., & Srawan, G., Y. 2010, Microencapsulation Techniques, Factor Influencing Encapsulation Efficiency, *Journal of Microencapsulation*, **27**(3).
- Kibbe., & Arthur H. 2000, Handbook of Pharmaceutical Excipients, *American Pharmaceutical Association*, Washington, **87**:433.
- Kibbe, A.H. 2000, Handbook of pharmaceutical excipients, 3rd edition. *The Pharmaceutical Press*, London, United Kingdom.
- Kim, S.-K. & Rajapakse, N. 2005, Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS), A review, *Carbohydrate Polymers*, **62**(4):357-68.
- Kittur, F.S., Kumar, A.B.V., Varadaraj, M.C., Tharanathan, R.N. 2005, Chitooligosaccharides preparation with the aid of pectinase isozyme from *Aspergillus niger* and their antibacterial activity, *Carbohydrate Research*, **340**:1239-1245
- Kumar, A.V.B., Varadaraj, M.C., Gowda, L.R. & Tharanathan, R.N. 2005, Characterization of chitooligosaccharides prepared by chitosanolysis with the aid of papain and pronase, and their bactericidal action against *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*, *Biochem. J.*, **391**:167-75.
- Kunkel, T. 2009, Envolving views of DNA replication (in) fidelity, *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.*
- Kurniawan, E. 2012, ‘Preparasi dan karakterisasi nanopartikel sambung silang kitosan-natrium polifosfat dalam gel verapamil hidroklorida’, *Skripsi*, S.Farm., Program Studi Ekstensi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengatahan Alam, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia.
- Kuo, C.H., Chen, C.C. and Chang, B.H. 2004, proses characteristics of hydrolysis of chitosan in a continuous enzymatic membrane reactor, *J.Food Sci*, **69**:7. 332-337.

- Lanimarta, Y. 2012, Pembuatan dan uji penetrasi nanopartikel kurkumin-dendrimer poliamidoamin (PAMAN) generasi 4 dalam sediaan del dengan menggunakan sel difusi franz, *Skripsi*, S.Farm, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia.
- Lawrie, G., Keen, I., Drew, B., Chandler-Temple, A., Rintoul, L., Fredericks, P. 2007, Interactions between Alginate and Chitosan Biopolymers Characterized Using FTIR and XPS, *Biomacromolecules*, **8(8)**: 2533-2541.
- Li, Y. et al. 2014, Chitosan oligosaccharides block LPSinduced O-GlcNAcylation of NF- κ B and endothelial inflammatory response, *Carbohydrate Polymers*, **99**:568-578.
- Li, X. et al. 2008, Effects of chitooligosaccharide supplementation on performance, nutrient digestibility, and serum composition in broiler chickens, *Poultry Science*, **86(6)**:1107-1114.
- Liang, T.W., Liu, C.P., Wu, C. & Wang, S.L. 2014, Applied development of crude enzyme from *Bacillus cereus* in prebiotics and microbial community changes in soil.
- Liaqat, F., & Eltem, R. 2018, Chitooligosaccharides and their biological activities: A comprehensive review, *Carbohydrate Polymers*, **184**:243-259.
- Lisboa, A. C., Valenzuela, M. G., Grazioli, G., Diaz, F. R., & Sogayar, M. C. 2007, Polymeric Microcapsules Production from Sodium Alginic Acid for Cell Therapy, *Material Research* **10(4)**:353-358.
- Lodhi, G., Kim, Y.-S., Hwang, J.-W., Kim, S.-K., Jeon, Y.-J., Je, J.-Y., Park, P.-J. 2014, Chitooligosaccharide and its derivatives: Preparation and biological applications, *BioMed Research International*.
- Magani, A. K., Tallei, T. E., & Kolondam, B. J. 2020, Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Bios Logos*, **10(1)**: 7-12.
- Mao, S., Shuai, X., Unger, F., Simon, M., Bi, D., and Kissel, T. 2004, The depolymerization of chitosan: Effects on physicochemical and biological properties, *Int. J. Pharm*, **281**:45–54.
- Mardikasari, S. A., Suryani, S., & Puspitasari, M. 2020, Preparasi dan Karakterisasi Mikrokapsul Asam Mefenamat Menggunakan Polimer Natrium Alginat dengan Metode Gelasi Ionik, *JURNAL ILMU KEFARMASIAN INDONESIA*, **18(2)**:192-197.
- Mardiyanto, M., Herlina, H., Fithri, N. A., & Rahmi, Y. 2019, Formulasi dan Evaluasi Sediaan Submikro Partikel Gelasi-Ionik Pembawa Ekstrak Daun Pluchea indica Sebagai Antibakteri pada Kulit Tikus Putih Jantan Galur Wistar, *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, **6:2**, 171-179.

- Mardiyanto, M., Wijaya, D. P., Untari, B., Herlina, H., & Firana, A. 2019, Physical Interaction Of Chitosan-Alginate Entrapping Extract Of Papaya Leaf And Formation Of Submicron Particles Dosage Form, *Science and Technology Indonesia*, **4(3)**: 64-69.
- Mardiyanto. 2013, Investigation of nanoparticulate formulation intended for caffeine delivery to hair follicles, *Dissertation*, Dr.rer.nat., Faculty III, Chemical, Pharmacy, and Biological, Saarland University, Germany.
- Martien, R., Adhyatmika, Irianto., Iramie D.K., Farida, V., Sari, Dian Purwita. 2012, Perkembangan teknologi nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat. *Majalah Farmasetik*, **8(1)**: 167 - 179.
- Mei, Y.-x., Dai, X.-y., Yang, W., Xu, X.-w., & Liang, Y.-x. 2015, Antifungal activity of chitooligosaccharides against the dermatophyte Trichophyton rubrum, *International Journal of Biological Macromolecules*, **77**:330-35.
- Menkes RI. 2011, Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik, In *Menteri Kesehatan RI*. Jakarta, Indonesia.
- Mohanraj, V.J. & Y. Chen. 2006, Nanoparticles : a review, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **5(1)**: 34 - 47.
- Moradhaseli, S. Abbas, Z.M., Ali, S., Nasser, M.D., Saman, S., Mehrasa, R. B. 2013, Preparation and characterization of sodium alginate nanoparticle containing icd-85 (venom derived pepides), *International journal pf innovation and applied studies*, **4**:534-542.
- Morch, Y.A. 2008, *Novel alginate microcapsules for cell threaphy*, NTNU, Trondheim, Norwegia.
- Muhaimin, 2013, Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif, *Jurnal Kesehatan UIN Alauddin Makassar*, **7(2)**.
- Mursida, M., Tasir, T., & Sahriawati, S. (2018). Efektifitas Larutan Alkali pada Proses Deasetilasi dari Berbagai Bahan Baku Kitosan, *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, **21:2**, 356-366.
- Omura, H., Uehara, K., and Tanaka, Y. 1991, Manufacture of low-molecular weight chitosan, *Japan patent*, 03-02203.
- Ortez, J. 2005, Disk Diffusion Test ing in Manual of Antimicrobial Susceptibility testing, Marie B. Coyle (Coord. Ed), *American society for Microbiology*.
- Pal, S.L., J.P.K. Manna, G.P., Mohanta & Manavalan, R. 2011, Nanoparticle an overview of preparation and characterization, *J Appl. Pharm. Sci*, **1(6)**: 228 - 234.

- Park, K., Yeo, Y., & Swarbrick, J. 2007, *Microencapsulation technology in: encyclopedia of pharmaceutical technology*. p 2315-2325, 3rd edition, Informa Healthcare Inc, New York, USA.
- Pelczar, M. 1988, *Dasar – dasar mikrobiologi2*. Universitas Indonesia Press, Jakarta, Indonesia.
- Prashanth K.V., Kittur F.S., Tharanathan R.N. 2002, Solid state structure of chitosan prepared under different N-deacetylating conditions. *Carbohydrate Polymers*. **50:3** 27–33
- Pratiwi, S.T. 2008, Mikrobiologi Farmasi, *Penerbit Erlangga*, Jakarta, Indonesia.
- Prihandani, S.S. 2015, Uji Daya Antibakteri Bawang Putih (*Allium sativum L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Pseudomonas aeruginosa* Dalam Meningkatkan Keamanan Pangan. *Informatika Pertanian*, **24(1)**:53-58.
- Purnamayanti, L., Dewi, E., N., & Kurniasih, R., A. 2016, Karakteristik Fisik Mikrokapsul Fikosianin Spirulina Pada Konsentrasi Bahan Penyalut Yang Berbeda, *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, **9(1)**.
- Putri., & Agustin M. 2018, Preparasi dan Karakterisasi Submikro Partikel Kitosan dan Natrium Alginat Pembawa Pati Bengkuang dan Uji Pencerah Kulit Secara In Vivo, *Skripsi*, S.Farm., Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Inderalaya, Indonesia.
- Radji, M. 2010, *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran: Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, Indonesia.
- Ramadhany, I.P. 2019, ‘Preparasi dan Karakterisasi Submikro Partikel Ekstrak Benalu Teh (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans) dengan Variasi Konsentrasi Natrium Alginat Sebagai Penyalut dan Uji Antioksidan’, *Skripsi*, S.Farm., Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Inderalaya, Indonesia.
- Rawat, M.D., Singh, and S. Saraf. 2006, Nanocarriers: Promising Vehicle for Bioactive Drugs, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29.
- Reis, C.P., Neufeld, R.J., Ribeiro, A.J. & Veiga, F. 2006, Nanoencapsulation methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, **2(1)**: 8 – 21.
- Ridho, F. A., Riyanto, B., & Uju, U. 2017, Chito-oligosaccharide by Chitosan Depolymerization Induced with Hydrogen Peroxide for application as Bio-

- preservative (Antimicrobial) on Traditional Fish boiled. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, **20:3**, 536-548.
- Riwayati, I. 2007, Analisa resiko pengaruh partikel nano terhadap kesehatan manusia, *J Sains*, **3(2)**: 17 – 18.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J. & Owen, S.C. 2006, Handbook of Pharmaceutical Excipients, *Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association*, London:159-162, 656-658.
- Sapana, P.A., Paraag, S.G., Shrivastav, A. & Pankaj, S. 2013, Ionotropic gelation: A promising crosslinking technique for hydrogels, *J nanotechnology*, **2(1)**: 234 –238.
- Sau, T. K, Pal, A, Jana, N. R, Wang, Z. L, Pal, T. 2003, Size controlled synthesis of gold nanoparticles using photochemically prepared seed particles, *J Nanoparticle Res*, **1(4)**:257–261.
- Singh, M. N., Hernant, M., Ram, & Shivakumar, H. G. 2010, Microencapsulation: A Promising Technique for Controlled Drug Delivery, *Journal Research in Pharmaceutical Science*.
- Sjahfirdi, L., Aldi, N., Maheswari, H. & Astuti, P. 2015, Aplikasi Fourier Transform Infrared (FTIR) dan pengamatan pembengkakan genital pada spesies primata, lutung jawa (*Trachypithecus auratus*) untuk mendeteksi masa subur, *Jurnal Kedokteran Hewan*, **9(2)**: 215-223.
- Sutiknowati, L. I. 2016, Bioindikator pencemar, bakteri Escherichia coli, *Jurnal Oseana*, **41:4**, 63-71.
- Taurozzi, J.S., Hackley, V.A. & Wiesner, M.R. 2010, Preparation of nanoparticle dispersion from powdered material using ultrasonic disruption, *Journal National Institute of Standards and Technology*, **1**: 1-10.
- Thwala, L.N. 2010, Preparation and characterization of chitosan-alginate nanoparticle as a drug delivery system for lipophilic compounds, *Dissertation*, M.Sc., Chemistry, University of Johannesburg, Johannesburg, South Africa.
- Todar, K. 2008, *Pathogenic E. coli*, diakses pada tanggal 30 Maret 2021, <<http://www.textbookofbacteriology.net>>.
- Triyati, E. 1985, Spektrofotometri ultra-violet dan sinar tampak serta aplikasi dalam oseanologi, *Oseana LIPI*, **10(1)**:39–47.
- Umawiranda, F.P., Cahyaningrum, E.S. 2014, Enkapsulasi Pirazinamid Menggunakan Alginat dan Kitosan, *UNESA Journal of Chemistry*, **3(3)**: 146-153.
- Utami, U.A. 2012, Preparasi dan karakterisasi *beads* kalsium alginat pentoksifillin dengan metode gelasi ionik, *Skripsi*, S.Farm., Program Studi Ekstensi

Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia.

Vauthier, C. & Bouchemal, K. 2009, Methods for the preparation and manufacture of polymeric nanoparticles, *Pharmaceutical Research*, **26(5)**: 1025–1058.

Wahyuni, S., Hardisaputro, S. & Harjono. 2013, Sintesis nanopartikel perak menggunakan metode poliol dengan agen stabilisator polivinilalkohol (PVA), *Jurnal MIPA*, **1(2)**: 157 – 159.

Waluyo, L. 2004, *Mikrobiologi Umum*, UMM Press, Malang.

Wardiyati, S. 2004, Pemanfaatan ultrasonik dalam bidang kimia, *Prosiding Pertemuan Ilmiah Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Bahan*, Puslitbang Iptek Bahan, 419 – 425.

Wijaya, N. S., Herlina, H., & Mardiyanto, M. 2017, Uji antibakteri sediaan nanopartikel pembawa ekstrak etanol biji palem putri (*Adonidia merrillii* (Becc.) Becc.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Doctoral dissertation*, Sriwijaya University.

Xia, E., Deng, G., Guo, Y. & Li, H. 2010, Biological Activities of Polyphenols from Grapes, *International Journal of Molecular Sciences*, **11**:622-46.

Younes I, Rinaudo M. 2015, Chitin and chitosan preparation from marine sources.

Structure, properties and applications, *Journal Marine Drugs*, **13:3**, 1133-1174.