

**SINTESIS NANOKITOSAN DENGAN HASIL KALSINASI MINERAL  
DEMINERALISASI KULIT UDANG SEBAGAI ANTIMIKROBA**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**FARICH ANDRE ANAS  
NPM 1917011082**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

## ABSTRAK

### SINTESIS NANOKITOSAN DENGAN HASIL KALSINASI MINERAL DEMINERALISASI KULIT UDANG SEBAGAI ANTIMIKROBA

Oleh

FARICH ANDRE ANAS

Nano-kitosan merupakan biopolimer yang memiliki sifat *nontoxic*, *biocompatible*, dan *biodegradable*. Pada penelitian ini bertujuan untuk memperoleh nanokitosan melalui proses *crosslinking* dengan menggunakan tripolifosfat dan mineral hasil demineralisasi (NK-TPP-MHD) untuk mendapatkan material baru sebagai antimikroba. Proses pembuatan mineral hasil demineralisasi kitin dilakukan melalui kalsinasi 800°C selama 4 jam, dengan memanfaatkan filtrat hasil demineralisasi isolasi kitosan untuk agen antimikroba. Pengujian antibakteri dilakukan NK-TPP-MHD menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan antijamur *M.globosa* dengan kitosan (kontrol) menggunakan metode difusi agar. Hasil analisis FT-IR dari kitosan menunjukkan adanya bilangan gelombang pada puncak serapan 3280 cm<sup>-1</sup> (-OH), 2877 cm<sup>-1</sup> (-CH<sub>2</sub>-), 1640 cm<sup>-1</sup> (amida 1) dan 1558 cm<sup>-1</sup> (amida 2), 1148-1021 cm<sup>-1</sup> (-CO), dengan derajat deasetilasi (DD) sebesar 83,11% (3 kali pengulangan). Hasil analisis kalsinasi Mineral Hasil Demineralisasi (MHD) menggunakan ICP-OES diperoleh kadar Ca 21.61% dan kadar Mg sebesar 2,51%. Hasil analisis ukuran partikel dengan menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA) pada perbandingan kitosan : MHD 1:1 dan kitosan : MHD 1:2 berturut-turut sebesar 171,5 nm dan 249,8 nm. Hasil uji antibakteri terhadap *S.aureus* dan antijamur terhadap *M.globosa*, 1:1, 1:2, dan 1:3 memiliki potensi sebagai *antimicrobial agent* dengan hasil uji terbaik pada perbandingan 1:2 berturut-turut sebesar 16 mm (antibakteri) dan 10 mm (antifungi).

**Kata Kunci** : Nano-kitosan, Demineralisasi Kitin, Tripolifosfat dan *Antimicrobial*

## ABSTRACT

### SYNTHESIS OF NANOCHITOSAN WITH THE RESULT OF CALCINED OF DEMINERALIZED MINERAL SHRIMP SHELLS AS AN ANTIMICROBIAL

By

FARICH ANDRE ANAS

Nano-chitosan is a biopolymer that has nontoxic, biocompatible, and biodegradable properties. This research aimed to obtain nanochitosan through a crosslinking process using tripolyphosphate and demineralized minerals (NK-TPP-MHD) to obtain new materials as antimicrobials. The process of making demineralized chitin minerals is carried out through calcination at 800°C for 4 hours, utilizing the filtrate resulting from demineralization of chitosan isolation for antimicrobial agents. Antibacterial testing was carried out by NK-TPP-MHD using *Staphylococcus aureus* and antifungal *M. globosa* with chitosan (control) using the agar diffusion method. The results of FT-IR analysis of chitosan showed that there were wave numbers at the absorption peaks of 3280 cm<sup>-1</sup> (-OH), 2877 cm<sup>-1</sup> (-CH<sub>2</sub>-), 1640 cm<sup>-1</sup> (amide 1) and 1558 cm<sup>-1</sup> (amide 2), 1148–1021 1021 cm<sup>-1</sup> (-CO), with a degree of deacetylation (DD) of 83.11% (3 repetitions). The results of the analysis of Demineralized Mineral Calcination (MHD) using ICP–OES obtained Ca levels of 21.61% and Mg levels of 2.51%. The results of particle size analysis using the Particle Size Analyzer (PSA) in the ratios of chitosan : MHD 1:1 and chitosan : MHD 1:2 were 171.5 nm and 249.8 nm, respectively. Antibacterial test results against *S. aureus* and antifungal test results against *M. globosa* at 1:1, 1:2, and 1:3 have the potential to be an antimicrobial agent, with the best test results at a ratio of 1:2, respectively, for 16 mm (antibacterial) and 10 mm (antifungal).

Keywords: Nano-chitosan, Demineralization of Chitin, Tripolyphosphate, and Antimicrobial

**SINTESIS NANOKITOSAN DENGAN HASIL KALSINASI MINERAL  
DEMINERALISASI KULIT UDANG SEBAGAI ANTIMIKROBA**

**Oleh**

**FARICH ANDRE ANAS**

**Skripsi  
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA SAINS**

**Pada**

**Jurusan Kimia  
Fakultas Matematika Universitas Lampung**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

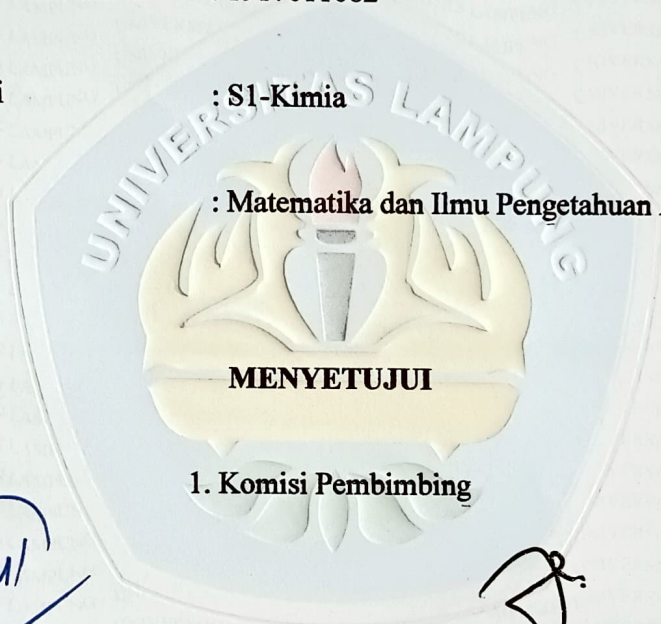
Judul Skripsi : SINTESIS NANOKITOSAN DENGAN HASIL  
KALSINASI MINERAL DEMINERALISASI  
KULIT UDANG SEBAGAI ANTIMIKROBA

Nama Mahasiswa : *Farich Andre Anas*

Nomor Pokok Mahasiswa : 1917011082

Program Studi : S1-Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



  
**Prof. John Hendri, Ph.D.**  
NIP. 19581021198703001

  
**Prof. Andi Setiawan, Ph.D.**  
NIP. 195809221988111001

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Unila

  
**Mulyono, Ph.D.**  
NIP. 197406112000031002

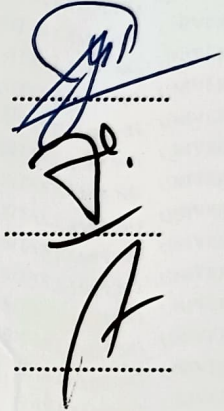
**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

Ketua : **Prof. John Hendri, Ph.D.**

Sekretaris : **Prof. Andi Setiawan, Ph.D.**

Anggota : **Dra. Aspita Laila, M.S.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.**  
NIP. 197110012005011002

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 04 Agustus 2023**

## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Farich Andre Anas  
Nomor Pokok Mahasiswa : 1917011082  
Jurusan : Kimia  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi Saya yang berjudul “Sintesis Nanokitosan Dengan Hasil Kalsinasi Mineral Demineralisasi Kulit Udang Sebagai Antimikroba” adalah benar karya sendiri dan saya tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi sesuai dengan kesepakatan.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenar-benarnya untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, Agustus 2023



Farich Andre Anas  
NPM. 1917011082

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Metro, Lampung pada 29 Mei 2001 sebagai anak pertama dari tiga bersaudara. Penulis yang bernama lengkap Farich Andre Anas merupakan anak dari pasangan Bapak Samsu dan Ibu Ajeng. Penulis menyelesaikan pendidikan di TK Al-Hanif Balonggandu, SD Negeri Balonggandu 2 Jatisari, SMP Islam Terpadu Al-Madani Kotabaru, dan SMA Islam Terpadu Al-Madani Kotabaru serta SMAS PGRI Cikampek. Pada tahun 2019, penulis terdaftar sebagai Mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis mengikuti beberapa kegiatan seperti Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) FMIPA Universitas Lampung sebagai anggota bidang kaderisasi dan pengembangan organisasi, Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FMIPA Universitas Lampung sebagai anggota sekaligus Kepala Dinas Sains dan Pengembangan Masyarakat (SPM). Penulis juga pernah menjadi asisten Praktikum Kimia Dasar. Penulis telah menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Biopolimer Universitas Lampung dengan judul “Isolasi dan Karakterisasi Kitosan dari Cangkang Kulit Udang Dengan Menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) dan *Difference Scanning*



*Calorimetry* (DSC)” dan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Kalapagunung  
Kecamatan Kramatmulya, Kuningan, Jawa Barat, Indonesia.

Penulis berharap tulisan ini dapat dikembangkan lebih dalam dan luas lagi, dan  
semoga dapat memberikan manfaat bagi keluarga, agama, negara, dan ilmu  
pengetahuan.

“Dalam doaku selalu teriring dalam pengampunan

Ya Allah ampunilah segala kesalahanku

Dari sekian banyak nikmat-Mu, sekali lagi

Kami mohon Ampunilah Hambamu ini,

Aamiin”.

(Ayahanda Tercinta)

“Wahai orang-orang beriman! Bertakwalah kepada Allah dan hendaklah setiap orang memperhatikan apa yang telah diperbuatnya untuk hari esok (akhirat), dan bertakwalah kepada Allah. Sungguh, Allah Mahateliti terhadap apa yang kamu kerjakan.”

(Q.S Al-Hasyr: 18)

## بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillah Rabbil 'Aalamin dan Puji syukur kepada Allah SWT atas limpahan karunia-Nya,

Saya persembahkan karya ini sebagai wujud bakti dan tanggung jawab kepada:

Allah SWT

Kedua orang tua saya, Ayah Samsu dan Ibu Ajeng, yang senantiasa berdoa untuk kebaikan serta kelancaran saya, yang selalu di dampingi oleh kasih yang sangat luar biasa, kasih sayang serta cintanya seperti tanpa batas dan tiada ujung.

Adik-adik saya yang sholeh Ibnu Farizal Arief dan Febrian Alfandra Haikal Sabili dan sahabat-sahabat saya.

Pembimbing penelitian saya Prof. John Hendri, Ph.D., Prof Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D., dan Dra. Aspita Laila, M.S.

Almamater tercinta.

Terakhir dan untuk saya.

## SANWACANA

Alhamdulillah Rabbil'aalamin puji syukur kehadiran Allah SWT yang sudah melimpahkan rahmat serta karunianya-Nya skripsi ini dapat diselesaikan. Shalawat serta salam semoga selalu tercurah kepada Nabi Muhammad SAW.

Skripsi yang berjudul **“Sintesis Nanokitosan Dengan Hasil Kalsinasi Mineral Demineralisasi Kulit Udang Sebagai Antimikroba”** ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Sains pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Dalam perjalanan penelitian dan penyusunan skripsi ini, saya ingin mengungkapkan rasa hormat dan terima kasih kepada:

1. Ayah Samsu dan mamah Ajeng selaku kedua orang tua atas hal-hal luar biasa dalam segala bentuk dan cara yang telah dilakukan untuk penulis, sehingga penulis berada pada titik ini dan dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik, kepada ayah yang selalu ada disisi penulis, terimakasih sudah memercayakan dan memperkenalkan dunia luar kepada penulis, meskipun penulis sadar bahwa kesempurnaan masih jauh dari cengkramannya. Untuk Ibu, bagi penulis engkau adalah dermaga tenang dibadai kehidupan, terima kasih karena selalu menyuguhkan teh hangat pelipur lara saat semua ingin menenggelamkan penulis.
2. Bapak Prof. John Hendri, Ph.D. selaku Pembimbing I atas kebaikan, persetujuan, bimbingan, arahan, motivasi, serta saran selama penulisan skripsi ini.
3. Bapak Prof. Andi Setiawan, Ph.D. selaku pembimbing II atas persetujuan, bimbingan, arahan, motivasi, serta saran selama penulisan skripsi ini.

4. Ibu Dra. Aspita Laila, M.S. selaku pembahas atas arahan, bimbingan, motivasi, dan saran selama penulisan yang menyempurnakan skripsi ini.
5. Bapak Diky Hidayat, M.Sc. selaku pembimbing akademik atas persetujuan, arahan dan bimbingan selama menjalankan perkuliahan.
6. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
7. Bapak Mulyono, Ph.D. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Unila.
8. Seluruh civitas akademika Jurusan Kimia FMIPA Unila.
9. Addella Pragustiyanti Mintarjo, Wahyu Indah Silvi Budyanti, dan Wahidatun Nur Khasanah atas kerja sama, bantuan, semangat, dukungan dan segala hal luar biasa yang telah diberikan.
10. Para sahabat dalam grup Kel. Kontrakan anak sholeh atas segala warna yang sudah di pahat bersama dan memberikan support yang positif hingga skripsi ini dapat selesai.
11. Untuk sahabat-sahabat terberisik, terbawel, terkocak dalam grup otw S6 yang selalu memberikan momen baik, penulis berharap mimpi untuk bisa terus meneruskan perjalanan ini dapat terus terulang kembali hingga season-season selanjutnya dimana kita bisa memulai untuk membuat warna baru dan saling berbagi kisah.
12. Rekan-rekan seperjuangan dalam grup Bismillahirrahmanirrahim yang memberikan banyak support, saran serta pembelajaran untuk penulis bisa menyelesaikan skripsi ini.
13. Sir. Muhammad Fadhil Ramadito yang selalu setia sabar untuk memberikan bimbingan, membantu, mendukung, dan meluangkan waktu serta pikirannya. Penulis banyak berharap semoga sukses untuk mengejar mimpinya, penulis juga meminta maaf apabila sering membuat susah.
14. Eki, Rangga, Thio, Zul, Akmal, Arya, Dq, Dienus, Niko, Wailhaq, Unggul, Isro, Dito, Adiya, Fatur, Kipang, Ibnu, Bayu penulis tidak sanggup mengungkapkan banyak kata karena penulis nanti nangis terus, Love u gaiss.

15. Pak Ridho dan Pak Fendi yang selalu sabar, mendukung, memberikan segala arahnya serta waktunya hingga skripsi ini dapat terselesaikan, kebbaikannya akan terus diingat oleh penulis hingga kapanpun.
16. Seluruh Kimia angkatan 2019 yang telah memberikan penulis banyak kesempatan untuk belajar diantara banyaknya orang-orang hebat seperti kalian.
17. Seseorang yang spesial yang telah menemani, mendengarkan, dan mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini, Nurinda Sari.
18. Dan untuk para sahabat lainnya, terima kasih sudah mau berjalan-berlari, bersedih berbahagia, berdua-bersama. Meski berpisah penulis berharap momen yang terjadi akan selalu terpahat abadi.
19. Seluruh pihak yang tidak bisa disebutkan satu-persatu, terima kasih banyak.

Terakhir, penulis memohon maaf dan menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, namun banyak harapan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi yang membaca dan juga bagi ilmu pengetahuan.

Bandar Lampung, 21 Agustus 2023

Penulis,

Farich Andre Anas

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	viii
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	3
1.3 Manfaat Penelitian .....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
2.1 Kulit Udang.....	4
2.2 Kitin .....	4
2.3 Kitosan .....	5
2.4 Nanokitosan .....	7
2.5 Mineral Pembawa Nanokitosan Hasil Demineralisasi Kitin.....	8
2.6 Konsep Dasar Metode Gelasi Ionik .....	8
2.7 Nanokitosan Sebagai Antimikroba .....	9
2.8 Antimikroba .....	10
2.9 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
2.10 <i>Malassezia globosa</i> .....	11
2.11 <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR).....	12
2.12 <i>Particle Size Analyzers</i> (PSA) .....	12
2.13 <i>Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry</i> (ICP-OES).....	13

<b>III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>15</b>
3.1 Waktu dan Tempat.....	15
3.2 Alat dan Bahan.....	15
3.3 Prosedur Penelitian .....	16
3.3.1 Pengambilan Sampel.....	16
3.3.2 Preparasi Sampel .....	16
3.3.3 Pembuatan Kitosan dari Kulit Udang.....	17
3.3.4 Kalsinasi Mineral Hasil Proses Demineralisasi.....	17
3.3.5 Sintesis Nanokitosan .....	18
3.3.6 Uji Aktivitas Antimikroba.....	18
3.3.7 Karakterisasi Kitosan Menggunakan <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR) .....	19
3.3.8 Karakterisasi Nanokitosan Logam Menggunakan instrumen <i>Particle</i> <i>Size Analyzer</i> (PSA).....	20
3.3.9 Analisis <i>Inductively Coupled Plasma–Optical Emission</i> <i>Spectrometry</i> (ICP-OES) .....	20
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>21</b>
4.1 Preparasi Sampel.....	21
4.2 Isolasi Kitosan.....	22
4.3 Kalsinasi Mineral Hasil Proses Demineralisasi .....	23
4.4 Sintesis Nanokitosan-TPP-Mineral Hasil Demineralisasi (MHD) .....	25
4.5 Uji Aktivitas Antibakteri.....	26
4.6 Uji Aktivitas Antifungi .....	28
4.7 Karakterisasi Kitosan Menggunakan <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR) .	29
4.8 Karakterisasi Menggunakan instrumen <i>Particle Size Analyzer</i> (PSA) .....	30
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>33</b>
5.1 Simpulan .....	33
5.2 Saran .....	34
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>35</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>44</b>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur molekul kitin.....	5
2. Struktur molekul kitosan.....	6
3. Interaksi Kitosan dengan Tripolifosfat .....	9
4. (a) Biomaterial Kulit Udang, (b) Kulit Udang Kering, (c) Penggilingan Kulit Udang, (d) Serbuk Kulit Udang .....	21
5. (a) Kitin Kasar, (b) Kitin, (c) Kitosan.....	22
6. Filtrat Hasil Demineralisasi .....	23
7. Mineral Hasil Demineralisasi (MHD).....	24
8. Kadar Mineral Hasil Demineralisasi (MHD).....	24
9. Hasil <i>freeze dry</i> selama 24 jam Nanokitosan Kitosan-TPP-MHD (a) 1:1 100 mg kitosan dan 100 mg partikel (MHD) (b) 1:2 100 mg kitosan dan 200 mg partikel (MHD) .....	25
10. Aktivitas terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus resistant</i> ; (K-) MeOH 12,5% (K+) Ciprofloxacin; (A) NK-TPP-MHD 1:1; (B) NK-TPP-MHD 1:2;(C) NK-TPP-MHD 1:3. ....	26
11. Aktivitas terhadap fungi <i>Malassezia globosa</i> (+) Ketoconazole (-) As.asetat; (A) NK-TPP-MHD 1:1; (B) NK-TPP-MHD 1:2; (C) Kitosan. ....	28
12. (a) Spektra IR kitosan standar kulit udang (b) Spektra IR kitosan hasil isolasi kulit udang .....	30
13. Hasil PSA ; (a) NK-TPP-MHD 1:1; (b) NK-TPP-MHD 1:2 .....	32

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kadar Logam yang ikut dalam $\text{CaC}_2\text{O}_4$ dan $\text{MgNH}_4\text{PO}_4$ .....	8
2. Diameter Zona Hambatan (mm) Antibakteri .....	26
3. Diameter Zona Hambatan (mm) Antifungi .....	28
4. Hasil PSA (nm) NK-TPP-MHD .....	30

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki wilayah perairan yang lebih luas dari daratan, sehingga hasil perikanan melimpah ruah (Arif dan Natsir, 2013). Salah satu contoh keanekaragaman hayati yang dimiliki perairan di Indonesia salah satunya adalah komoditas udang (Boudouaia *et al.*, 2019).

Komoditas ini merupakan salah satu sumber pemenuhan gizi dan memiliki nilai ekonomis yang tinggi, bahkan menjadi komoditas yang diunggulkan dari Indonesia (Sam dan Putri, 2022). Dari hasil laut yang berlimpah khususnya udang akan menghasilkan limbah kulit udang sebagai hasil samping dalam ekspor udang, dimana kulit udang tersebut terbuang atau dimanfaatkan untuk pakan ternak atau yang lain dengan nilai ekonomis yang rendah dan mudah sekali membusuk sehingga akan menimbulkan pencemaran lingkungan (Dompeipen *et al.*, 2016). Untuk hal tersebut, perlu dilakukan pengolahan lebih lanjut terhadap limbah kulit udang yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber daya terbarukan melalui kandungan yang terdapat pada kulit udang yaitu kitosan (Zore *et al.*, 2011). Kitosan dapat diproduksi dari kulit udang karena kulit udang tersusun atas kitin yang menjadi sumber utama senyawa kitosan (Widyastuti *et al.*, 2022).

Komposisi kulit udang terdiri dari protein 30–40%, mineral 30–50% dan kitin 20–30% yang sangat penting untuk digunakan dalam sektor pertanian dan farmasi (Hoqani *et al.*, 2020).

Proses perolehan kitosan dari kulit udang dapat dilakukan secara kimia dengan melalui proses deproteinasi, demineralisasi, dan deasetilasi (Hendri *et al.*, 2007). Pemanfaatan kitosan dalam berbagai industri modern, seperti farmasi, kosmetika, biokimia, pangan, tekstil telah banyak diterapkan (Klongthong *et al.*, 2020). Baharuddin (2021) telah melaporkan bahwa kitosan memiliki sifat antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan berbagai mikroorganisme seperti bakteri, jamur, dan ragi (Sagoo *et al.*, 2002). Menurut Mariska (2012) kitosan dapat juga digunakan sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Propionibacterium agnes*, dan *Escherichia coli* (Younes *et al.*, 2014).

Namun demikian, penggunaan kitosan dalam dunia industri masih perlu dilakukan inovasi dan pengembangan. Pengembangan penggunaan kitosan ini salah satunya dapat dioptimalkan dari aspek ukuran struktur molekulnya (Qian *et al.*, 2017). Saat ini, banyak peneliti tengah melakukan modifikasi struktur kitosan menjadi ukuran partikel dengan skala nano (Husniati dan Eva, 2014). Nanokitosan memiliki daya serap dan kemampuan yang lebih baik untuk diaplikasikan sebagai senyawa antibakteri dibandingkan kitosan ukuran biasa (Magani *et al.*, 2020).

Menurut Hendri *et al.* (2007) mineral seperti Ca, Mg, Zn, Cu, dan K dapat digunakan sebagai *antimicrobial* selain dari kitosan. Hasil mineral yang terkandung dalam proses pembuatan kitosan (demineralisasi) umumnya adalah  $(\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2)$ , kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ) dan magnesium karbonat ( $\text{MgCO}_3$ ). Proses demineralisasi biasanya menggunakan larutan asam klorida (HCl). Dimana penggunaan larutan HCl dengan konsentrasi lebih dari 10% lebih efektif sebagai pelarut kalsium (Ca) menghasilkan kalsium klorida ( $\text{CaCl}_2$ ) (Hendri *et al.*, 2007). Untuk memperoleh ukuran partikel dari nanokitosan dilakukan melalui metode *ionic gelation* menggunakan senyawa tripolifosfat (NK-TPP). Proses selanjutnya dilakukan dengan memasukkan mineral Ca dan Mg hasil kalsinasi proses demineralisasi. Pengujian NK-TPP-MHD dan kitosan sebagai kontrol dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan fungi patogen *Malassezia globosa* (Sivakumar *et al.*, 2017).

Pada penelitian ini dilakukan sintesis nanokitosan dan hasil demineralisasi dari kulit udang sebagai antimikroba. Pertama dilakukan pembuatan kitin melalui proses deproteinasi dan demineralisasi. Hasil filtrat dari proses demineralisasi dilakukan proses kalsinasi yang akan menjadi kandidat agen antimikroba, dimana mineral Ca dan Mg menjadi antimikroba (Hendri *et al.*, 2007).

## **1.2 Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan penelitian ini sebagai berikut :

1. Mengkarakterisasi kitosan dari kulit udang.
2. Memperoleh mineral hasil proses demineralisasi.
3. Mensintesis NK-TPP-MHD.
4. Menguji kemampuan dari NK-TPP-MHD sebagai aktivitas antimikroba.

## **1.3 Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai NK-TPP-MHD sebagai antimikroba dan memanfaatkan filtrat hasil demineralisasi isolasi kitosan.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

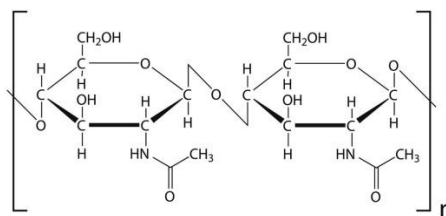
### 2.1 Kulit Udang

Indonesia umumnya mengekspor udang kupas yang telah dipisahkan bagian kepala dan ekor dari kulitnya. Udang dimanfaatkan sebagai bahan makanan yang memiliki nilai gizi tinggi (Luzyawati dan Hamidah, 2021). Proses pemisahan tersebut diperoleh hasil samping berupa kepala, kulit dan kaki udang yang dapat mencapai 25% dari keseluruhan produk yang kemudian menjadi limbah yang berpotensi menimbulkan masalah lingkungan seperti menimbulkan polusi udara berupa bau yang cukup mengganggu dan juga dapat menaikkan *Biological Oxygen Demand* (BOD) dan *Chemical Oxygen Demand* (COD) dalam perairan (Prayogo, 2015).

### 2.2 Kitin

Kitin merupakan suatu polimer linier yang sebagian besar tersusun dari monomer  $\beta$ -(1,4)- N-asetil-D-glukosamin (Kahar *et al.*, 2022). Kitin adalah biopolimer (polimer alami yang diproduksi oleh organisme hidup) yang melimpah di alam setelah selulosa. Kitin umumnya ditemukan dalam bentuk kristal mikrofibril pada komponen struktural krustasea, serangga, sel-sel jamur dan mikroorganisme lainnya. Kitin terdistribusi luas di lingkungan biosfer seperti pada kulit krustasea (kepiting, udang, dan lobster), ubur-ubur, komponen struktur eksternal insekta, dinding sel *fungi* (22- 40%), alga, nematoda ataupun tumbuhan (Pratiwi *et al.*, 2014). Kitin sebagai biopolimer alami mempunyai banyak kelebihan, seperti mempunyai sifat biokompatibilitas, biodegradabilitas dan tidak beracun

(Mahyudin *et al.*, 2017). Umumnya kitin tidak terdapat dalam keadaan bebas di alam, kitin berikatan dengan protein, mineral dan beberapa pigmen.



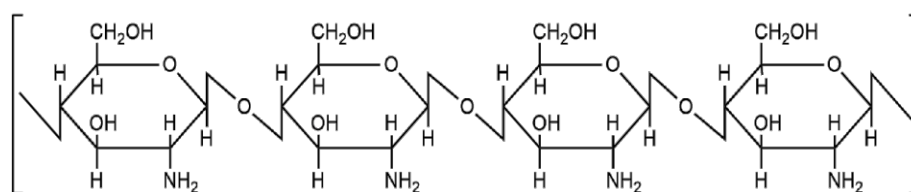
**Gambar 1.** Struktur molekul kitin (Khattak *et al.*, 2019).

Kitin dapat diperoleh melalui proses demineralisasi dan deproteinasi. Proses demineralisasi ini bertujuan untuk menghilangkan garam-garam anorganik atau kandungan mineral yang ada pada kulit udang. Kandungan mineral utamanya adalah Ca dan Mg dalam jumlah kecil, mineral yang terkandung dalam kulit udang ini lebih mudah dipisahkan dibandingkan dengan protein karena hanya terikat secara fisik (Hendri *et al.*, 2007). 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 dan menyebabkan terjadinya proses deasetilasi (Wahyuni *et al.*, 2020).

### 2.3 Kitosan

Secara luas, kitosan digunakan dalam bidang pengobatan dan bioteknologi sebagai bahan farmasi yang memiliki tingkat toksisitas yang lebih rendah dan kemampuan biodegradasi serta *biocompatibility* melalui aktivitas biologi dari kitosan seperti *hypocholesterolemic*, antimikroba, dan antijamur (Nadia *et al.*, 2014). Polimer yang tersusun atas monomer 2-amino-2-deoksi-D-glukosa dengan ikatan β-(1→4) telah banyak digunakan di berbagai bidang, misalnya pertanian, tekstil, makanan, kosmetik, dan farmasi (Pan *et al.*, 2019). Keberadaan biopolimer kitosan terdapat pada kulit *crustaceae* seperti kepiting, udang, dan lobster (Setiati *et al.*, 2021).

Kitosan adalah polisakarida yang terdiri dari beragam jumlah residu N-asetil-2-amino-2-deoksi-D-glukosa (N-asetil glukosamin) dan 2-amino-2-deoksi-D-glukosa (glukosamin) yang antar residu terhubung dengan ikatan  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4), membentuk polimer rantai panjang yang linear (Luo & Wang, 2013). Rumus molekul kitosan adalah (C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub>) (Fathi *et al.*, 2014). Kitosan tersusun atas atom karbon, hidrogen, nitrogen masing-masing sebesar 44,11%, 6,84%, dan 7,97% (Garg *et al.*, 2019). Sumber utama polimer ini yaitu berasal dari kulit kepiting, kulit udang, dan kulit lobster (Bangun *et al.*, 2018). Struktur biopolimer kitosan dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Struktur molekul kitosan(Khattak *et al.*, 2019).

Disisi lain, beberapa peneliti menganggap kitosan lebih unik dibandingkan dengan kitin, hal ini dikarenakan adanya kehadiran gugus amino (NH<sub>2</sub>) pada posisi C-2, sehingga membuat kitosan memiliki nilai pKa dalam rentang 6,2. Berdasarkan sifat-sifatnya, kitosan banyak diteliti dalam sejumlah aplikasi bidang biomedis, termasuk teknik jaringan, pengiriman obat, penyembuhan luka, kosmetik, dan aplikasi antimikroba (Klongthong *et al.*, 2020).

Produksi kitosan dapat dihasilkan melalui 4 tahap, yaitu deproteinasi, demineralisasi, depigmentasi, dan deasetilasi. Deproteinasi merupakan proses penghilangan protein dari kitin. Dimana menggunakan larutan alkali konsentrasi rendah seperti NaOH 20% dan KOH%. Deproteinasi bertujuan untuk dapat menghilangkan protein dari kitin dengan menggunakan larutan NaOH 3,5% selama 2 jam pada temperatur 65°C. Tahap selanjutnya proses demineralisasi yang bertujuan untuk menghilangkan mineral yang ada pada kulit udang dengan menggunakan asam klorida (HCl) berkonsentrasi lebih dari 10%. Setelah itu kulit udang dihilangkan pigmen warnanya di dalam proses depigmentasi dengan menggunakan aseton, dan dilakukan pemutihan dengan NaOCl 0,5% selama 10 menit pada suhu kamar. Tahap terakhir adalah deasetilasi dimana bertujuan untuk



menjadikan kitin sebagai kitosan dengan menggunakan basa kuat berkonsentrasi tinggi (NaOH). Penggunaan larutan basa konsentrasi tinggi pada proses deasetilasi kitin menjadi kitosan dimaksudkan untuk memutus ikatan antara gugus asetil dengan atom nitrogen menjadi gugus amina (-NH<sub>2</sub>) (Hendri *et al.*, 2007).

## 2.4 Nanokitosan

Penelitian nanokitosan sampai saat ini terus dikembangkan, baik dalam penentuan komposisi maupun pencarian metode yang sesuai. Nanokitosan merupakan partikel kitosan dengan ukuran 1-100 nm dan banyak digunakan sebagai media penghantaran obat. Partikel kitosan berukuran nano dapat meningkatkan daya hantar kitosan, memiliki stabilitas yang tinggi, dan meningkatkan adsorpsi kitosan (Fan *et al.*, 2012). Nanokitosan mempunyai keunggulan, yaitu lebih stabil, luas permukaan lebih tinggi, dapat dijadikan matriks berbagai jenis obat, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sediaan farmasi (Sam dan Putri, 2022). Nanokitosan memiliki kemampuan adsorpsi lebih baik daripada kitosan karena memiliki permukaan yang lebih spesifik, ukuran yang kecil, dan efek ukuran kuantum, sehingga efisiensi dalam menyerap ion logam menjadi lebih tinggi (Yudhasmita *et al.*, 2017).

Beberapa penelitian mengenai modifikasi ukuran kitosan menjadi nano telah dilakukan, diantaranya menurut Suptijah *et al* (2011) nanokitosan cangkang udang vannamei dengan penambahan TPP 0,1% berukuran 400-450 nm, nanokitosan dari cangkang lobster berukuran 357-1631 nm (Suptijah *et al.*, 2011). Kitosan dengan penambahan TPP 0,001% menghasilkan partikel nanokitosan berukuran 389-877 nm (Putri dan Atun., 2017).

## 2.5 Mineral Pembawa Nanokitosan Hasil Demineralisasi Kitin

Kitosan dapat digunakan sebagai adsorben logam. Kemampuan kitosan untuk menyerap logam dengan cara pengkhelatan yang dipengaruhi oleh kandungan nitrogen tinggi dalam rantai polimer. Kitosan setiap unit glukosa memiliki gugus amino rantai lurus. Gugus amino memiliki sepasang elektron yang dapat mengkoordinasikan atau membentuk ikatan aktif dengan kation logam (Alfian, 2003). Kitosan merupakan adsorben alami, yang dapat dimanfaatkan untuk menyerap ion logam karena kitosan adalah biopolimer (Iriana *et al.*, 2018). Pada penelitian ini digunakan nanokitosan sebagai adsorben logam mineral yang berasal dari demineralisasi kitin yang bertujuan memanfaatkan residu dari kitin sebagai pembawa nanokitosan tersebut. Kadar mineral hasil demineralisasi kitin telah diteliti sebelumnya oleh Hendri *et al* (2007) melalui uji kemurnian  $\text{CaC}_2\text{O}_4$  dan  $\text{MgNH}_4\text{PO}_4$  yang dilaporkan pada Tabel 1.

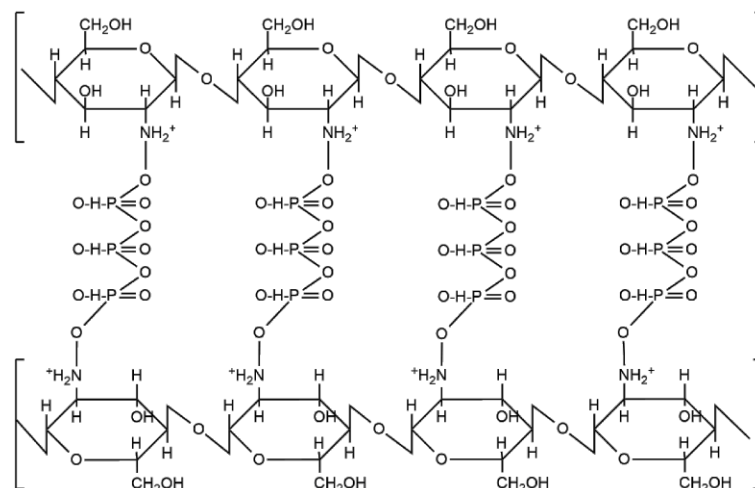
**Tabel 1.** Kadar Logam yang ikut dalam  $\text{CaC}_2\text{O}_4$  dan  $\text{MgNH}_4\text{PO}_4$

	%Mg	%Ca	%Zn	%K	%Pb	%Cu	%Kemurnian
$\text{CaC}_2\text{O}_4$	3,91	-	1,12	0,32	-	$4,9 \times 10^{-4}$	94,6
$\text{MgNH}_4\text{PO}_4$	-	0,044	1,67	12,2	-	0,32	85,7

## 2.6 Konsep Dasar Metode Gelasi Ionik

Metode gelasi ionik merupakan salah satu teknik pembuatan nanokitosan kitosan yang banyak digunakan, karena mudah dilakukan dan murah harganya. Prinsip dari metode gelasi ionik adalah terjadi interaksi elektrostatik antara gugus amino kitosan yang bermuatan positif dan gugus negatif dari polianion. Salah satu polianion yang dapat digunakan adalah sodium tripolifosfat (STPP) (Abdelgawad & Hudson, 2019). Menurut Hardiningtyas *et al* (2022), nanokitosan bersifat lebih reaktif terhadap sel bakteri dibandingkan kitosan, karena mudah teradsorpsi ke dalam sel bakteri dalam waktu yang lebih cepat.

Reaksi kitosan dalam penambahan tripolifosfat melalui mekanisme reaksi antara. Pada tahap ini ion  $\text{-NH}_3^+$  menyubstitusi ion  $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$  sehingga membentuk rantai manik-manik. Penambahan asam atau ion  $\text{H}^+$  dalam reaksi ini menyebabkan pembentukan nanokitosan kitosan yang ditandai dengan pemutusan rantai polimer dan pelepasan gugus  $\text{NH}_2$  (pengaturan bentuk partikel secara melingkar) (Kunjachan & Jose, 2010). Ketika kitosan ditambahkan dengan tripolifosfat, polianion (muatan negatif) berikatan dengan muatan positif dari gugus amino melalui interaksi elektrostatik, yang menyebabkan kitosan mengalami ionisasi gel, mengarah pada pembentukan nanokitosan. Interaksi utama pada konfigurasi ikatan silang adalah *H-link* dan *T-link*. *H-link* merupakan interaksi  $\text{O}^-$  dan  $\text{NH}_3^+$  pada bidang yang sama, sedangkan *T-link* merupakan interaksi tak mengikat atom oksigen dengan  $\text{NH}_3^+$  pada bidang yang berbeda (Hoang *et al.*, 2022). Berikut interaksi yang terjadi antara kitosan dan TTP pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Interaksi Kitosan dengan Tripolifosfat (Kunjachan & Jose, 2010)

## 2.7 Nanokitosan Sebagai Antimikroba

Penggunaan senyawa antimikroba yang tepat dapat memperpanjang umur simpan suatu produk serta menjamin keamanan produk. Bahan antimikroba dapat dijadikan rekomendasi karena tidak membahayakan kesehatan. Modifikasi penelitian mengenai kitosan telah banyak dilakukan baik dalam proses kimia

maupun fisik dengan mengubah ukuran partikel kitosan yaitu dalam bentuk nanokitosan. Nanokitosan kitosan memiliki daya serap dan kemampuan yang lebih baik sebagai senyawa antibakteri dan antijamur dibandingkan kitosan ukuran biasa (Oh *et al.*, 2019).

Nanokitosan memiliki sifat antimikroba yang lebih baik dibandingkan dengan kitosan biasa, karena mampu menghambat bakteri patogen dan mikroorganisme pembusuk, termasuk jamur, bakteri gram positif dan negatif. Antimikroba dari nanokitosan dalam melawan bakteri atau mikroorganisme mempunyai sifat afinitas tergantung pada berat molekul dan derajat deasetilasi. Berat molekul dan derajat deasetilasi yang lebih besar menunjukkan aktivitas antimikroba yang lebih besar (Mellegard *et al.*, 2011).

## 2.8 Antimikroba

Antimikroba merupakan zat-zat kimia yang dapat dihasilkan oleh *fungi* dan bakteri, zat tersebut memiliki khasiat atau kemampuan untuk mematikan atau dapat menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitas terhadap manusia relative kecil. Antimikroba menurut Waluyo (2004), antimikroba merupakan suatu zat-zat kimia yang diperoleh dan dihasilkan oleh mikroorganisme, zat tersebut mempunyai daya penghambat aktivitas mikroorganisme lain meskipun dalam jumlah sedikit. Antimikroba adalah zat kimia yang dihasilkan oleh suatu mikroba yang mempunyai khasiat antimikroba. Senyawa antimikroba antara lain yaitu, saponin, tannin, flavonoid, xantol, terpenoid, alkaloid dan sebagainya (Parubak, 2013).

Reaksi penambahan tripolifosfat dalam kitosan melalui mekanisme reaksi antara. Pada tahap ini ion  $-\text{NH}_3^+$  menyubstitusi ion  $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$  sehingga membentuk rantai manik-manik. Penambahan asam atau ion  $\text{H}^+$  dalam reaksi ini menyebabkan pemutusan rantai polimer (pembentukan nanokitosan kitosan) dan pelepasan gugus  $\text{NH}_2$  (pengaturan bentuk partikel secara melingkar) (Kunjachan and Jose, 2010). Ketika tripolifosfat ditambahkan ke dalam larutan kitosan, polianion

(muatan negatif) berikatan dengan gugus amino (muatan positif) melalui interaksi elektrostatik, yang menyebabkan kitosan mengalami ionisasi gel, mengarah pada pembentukan nanokitosan. Interaksi utama pada konfigurasi ikatan silang adalah *H-link* dan *T-link*. *H-link* merupakan interaksi  $O^-$  dan  $NH_3^+$  pada bidang yang sama, sedangkan *T-link* merupakan interaksi tak mengikat atom oksigen dengan  $NH_3^+$  pada bidang yang berbeda (Hoang *et al.*, 2022).

## 2.9 *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* berasal dari kata *staphyle* yang berarti kelompok buah anggur, *coccus* yang berarti bulat serta *aureus* yang berarti keemasan (Tammi, 2015). *S.aureus* merupakan bakteri gram positif anaerobik fakultatif, yang berbentuk bulat (*coccus*), membentuk pigmen kuning keemasan pada media agar darah sehingga sering juga disebut 'staph emas', non motil, tidak berspora, berdiameter 0,7-1,2  $\mu m$ , tersusun dalam bentuk bergerombol seperti buah anggur dan tumbuh optimal pada suhu 35-37°C, menghasilkan koagulase, serta memfermentasi glukosa dan manitol. Bakteri ini dapat tumbuh pada pH optimum sekitar 7,0-7,5. Bakteri *S.aureus* berkembang biak dengan cara pembelahan biner, dimana dua anakan sel tidak terpisah secara sempurna sehingga terlihat seperti membentuk koloni kluster seperti anggur (Juariah, 2021).

## 2.10 *Malassezia globosa*

*Malassezia globosa* (*M. globosa*) adalah salah satu *genus Malassezia sp* (Miranda *et al.*, 2007) yang merupakan flora normal kulit manusia, organisme dimorfik, lipofilik, unipolar dan dapat menjadi patogen oportunistik apabila jumlah *M. globosa* pada kulit manusia terlalu banyak (Wu *et al.*, 2020). *M. globosa* merupakan penyebab paling umum pada kasus ketombe (Rudramurthy *et al.*, 2014). Jumlah *M. globosa* di kulit kepala akan meningkat sebanyak 1,5-2 kali dibandingkan dengan kulit kepala normal (Begum *et al.*, 2019). Pertumbuhan *M. globosa* cenderung meningkat di suhu yang hangat dan lembab (Akaza *et al.*,

2012).Indonesia sebagai negara tropis yang memiliki suhu hangat serta tingkat kelembaban yang tinggi, mampu memberikan pertumbuhan mikroorganisme yang meningkat seperti pada jamur (Mulyono *et al.*, 2019).

### **2.11 *Fourier Transform Infrared (FTIR)***

Spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FTIR) merupakan salah satu instrumen yang digunakan untuk penentuan struktur kimia. Alat ini biasanya digunakan untuk menentukan gugus-gugus fungsi senyawa organik, misalnya alkohol, aldehida, asam karboksilat, dan sebagainya. Mekanisme kerja alat ini dengan menggunakan radiasi sinar infra merah pada rentang bilangan gelombang 0–4000  $\text{cm}^{-1}$ . Dalam sintesis nanomaterial, khususnya yang menggunakan bahan biopolimer, spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FTIR) sering digunakan dalam mengkonfirmasi interaksi kimia dari masing-masing senyawa yang digunakan. Penggunaannya paling banyak untuk kimia organik pada batas panjang gelombang antara 4000 dan 400  $\text{cm}^{-1}$ . Spektrum vibrasi tampak berupa pita. Ada dua tipe vibrasi molekuler yaitu *stretching* dan *bending*. Hanya vibrasi yang menghasilkan perubahan secara ritmik pada momen dipol yang diobservasi dalam IR (Silverstein, 2005).

### **2.12 *Particle Size Analyzers (PSA)***

*Particle Size Analyzers* (PSA) digunakan untuk menentukan ukuran partikel, dimana partikel didispersikan ke dalam media cair sehingga partikel tidak saling beraglomerasi (menggumpal). Ukuran partikel yang terukur adalah ukuran dari partikel tunggal. Data ukuran partikel yang didapatkan berupa tiga distribusi yaitu intensitas, nomor, dan volume distribusi sehingga dapat diasumsikan menggambarkan keseluruhan kondisi sampel (Nikmatin *et al.*, 2011).

Metode pengukuran distribusi ukuran nanokitosan menggunakan PSA dinilai lebih akurat dalam menentukan distribusi ukuran partikel dibandingkan metode

analisa gambar. Metode PSA merupakan metode dengan prinsip hamburan cahaya dinamis (DLS). Metode pengukuran menggunakan PSA dapat berupa metode basah dengan menggunakan media pendispersi serta metode kering dengan memanfaatkan udara atau aliran udara untuk melarutkan partikel dan membawanya ke sensing zone. Umumnya pengukuran partikel dengan menggunakan PSA menggunakan metode basah, agar partikel tidak saling beraglomerasi (menggumpal). Prinsip penggunaan dengan metode basah tersebut membuat PSA mampu mengukur ukuran partikel dari partikel tunggal. Hasil pengukuran dalam bentuk distribusi sehingga hasil pengukuran dapat diasumsikan sudah menggambarkan keseluruhan kondisi sampel (Hasan, 2012).

Ukuran partikel yang diukur menggunakan hamburan cahaya dinamis (DLS) yaitu diameter dari lingkaran partikel yang terdifusi dengan kecepatan yang sama pada saat pengukuran Prinsip kerja alat ini adalah pengukuran gerak brown partikel pada sampel dengan prinsip DLS, kemudian diinterpretasikan dengan perangkat lunak (Hasan, 2012).

### ***2.13 Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry (ICP-OES)***

*Inductively Coupled Plasma* (ICP) adalah sebuah teknik analisis yang digunakan untuk deteksi dari trace metals dalam sampel lingkungan pada umumnya. Prinsip utama ICP dalam penentuan elemen adalah pengatomisasian elemen sehingga memancarkan cahaya panjang gelombang tertentu yang kemudian dapat diukur. Keuntungan dari ICP-OES dengan kemampuan mengidentifikasi dan mengukur semua elemen yang diukur dengan bersamaan, pembacaan ICP-OES terhadap berbagai elemen yang dianalisis dapat dilakukan dalam jangka waktu yang singkat yaitu 30 detik dan hanya menggunakan  $\pm 5$  ml sampel. Walaupun secara teori, semua unsur kecuali argon dapat ditentukan menggunakan ICP-OES, namun beberapa unsur tidak stabil memerlukan fasilitas khusus untuk menanganinya (Boumans, 1987). Selain itu, ICP-OES memiliki kesulitan menangani analisis senyawa-senyawa halogen. ICP-OES dapat digunakan dalam analisis kuantitatif untuk jenis sampel bahan- bahan alam seperti batu, mineral, tanah, endapan udara,

air, dan jaringan tanaman dan hewan, mineralogi, pertanian, kehutanan, peternakan, kimia ekologi, ilmu lingkungan dan industri makanan, termasuk pemurnian dan distribusi analisa elemen air yang tidak mudah dikenali oleh AAS seperti sulfur, boraks, fosfor, titanium, dan zirconium (Holilah *et al.*, 2016).



### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Februari 2023 sampai Juni 2023 di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi (UPT LTSIT), Laboratorium Kimia Dasar, dan Laboratorium Biopolimer Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Lampung.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah peralatan gelas meliputi beaker glass pyrex, cawan petri, gelas ukur pyrex, spatula, karet gelang, tisu, pinset, plastik *wrap*, korek api, spidol, pensil, kertas label, indikator pH universal, jarum ose, lampu spirtus, mikropipet *biohit*, oven *jisico*, laminar air flow, mesh, neraca analitik Kern 440-47N, oven, *Particle Size Analyzers* (PSA) (Nanoplus Particulate Systems), Germany, *Ultrasonic Bath* (Branson Ultrasonic Cleaner model 1510, United States), *Fourier Transform Infrared* (FTIR) (Agilent Technologies Cary 630, United States), *Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry* (ICP-OES), Furnace, dan *hot plate stirrer* Thermolyne.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah aquades, Tryptic Soya Broth (TSB), kentang, agar swallow, Mueller Hinton Agar (MHA), metanol (MeOH) teknis, dextrose, ketoconazole, ciprofloxacin, glukosa, kulit udang, HCl teknis, NaOH teknis, CH<sub>3</sub>COOH teknis, Potato Dextrose Agar (PDA), Potato Dextrose Broth (PDB), dan Tripolifosfat (TPP).

### **3.3 Prosedur Penelitian**

#### **3.3.1 Pengambilan Sampel**

Biomaterial kulit udang dikumpulkan dari gudang lelang, tempat pelelangan ikan Lempasing Bandar Lampung. Biomaterial kulit udang disimpan dalam wadah plastik besar dan ditempatkan dalam *freezer*.

*Fungi* patogen *Malassezia globosa* yang digunakan didapatkan dari Laboratorium Parasitologi, Universitas Indonesia. Sedangkan untuk bakteri patogen *Staphylococcus aureus* yang digunakan untuk diperoleh dari Dinas Kesehatan Kota Bandar Lampung.

#### **3.3.2 Preparasi Sampel**

Biomaterial kulit udang dibersihkan secara menyeluruh dengan air dan dipisahkan ampas udang secara manual dari dagingnya yang tersisa. Setelah dipisahkan, sampel limbah udang yang terkumpul dibersihkan kembali dengan air untuk menghilangkan pasir, lumpur dan partikel lainnya. Kemudian, sampel limbah udang bersih dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 24 jam. Sampel yang sudah kering dihaluskan menjadi serbuk menggunakan mesin blender. Sampel padatan yang diperoleh ditimbang massanya. Serbuk halus sudah dapat digunakan untuk memperoleh kitosan (Hoqani *et al.*, 2020).

### 3.3.3 Pembuatan Kitosan dari Kulit Udang

Pembuatan kitosan dari kulit udang dilakukan menggunakan modifikasi metode yang dilaporkan oleh Hoqani (Hoqani *et al.*, 2020). Proses pembuatan kitosan melalui empat tahap, yaitu deproteinasi, demineralisasi, dan deasetilasi. Langkah pertama, deproteinasi 100 gram serbuk kulit udang dalam beaker glass 2 L. Sampel kemudian dilakukan pengadukan dengan NaOH (1000 mL, 10%; 1:10 b/v) pada 60°C selama 2 jam. Sampel yang telah dideproteinasi disaring, dicuci dengan aquades, dan dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 24 jam. Pada hasil deproteinasi kulit udang akan didemineralisasi menggunakan HCl (580 mL, 1.25N; 1:10 w/v) dengan pengadukan konstan selama 2 jam pada temperatur 60°C. Filtrat hasil demineralisasi dipisahkan dari substratnya dan disimpan untuk digunakan pada proses kalsinasi. Kemudian substrat hasil demineralisasi di disaring, lalu dicuci dengan aquades hingga pH netral, dan dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 24 jam. Kitin hasil demineralisasi dilanjutkan dengan proses deasetilasi menggunakan larutan NaOH 60% selama 4 jam pada temperatur 90°C dan dicuci dengan aquades, dan dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 24 jam. Kemudian dilakukan karakterisasi menggunakan FTIR.

### 3.3.4 Kalsinasi Mineral Hasil Proses Demineralisasi

Filtrat hasil demineralisasi kitin yang sudah dipisahkan dioven dengan temperatur 60°C selama 2 jam, kemudian dikalsinasi menggunakan furnace pada suhu 800°C, Kemudian padatan hasil kalsinasi demineralisasi yang diperoleh dianalisis kandungan logamnya menggunakan ICP-OES (Trakoolwannachai *et al.*, 2019).

### 3.3.5 Sintesis Nanokitosan

Pada penelitian ini dilakukan pembuatan nanokitosan-TPP-mineral hasil demineralisasi yaitu pembuatan nanokitosan-TPP (Qian *et al.*, 2017). Partikel nanokitosan-MHD dengan perbandingan (1:1) antara kitosan dan partikel Mineral Hasil Demineralisasi (MHD). Mula-mula kitosan sebanyak 100 mg dilarutkan dalam asam asetat 1% (v/v, 10 mL) pada 250 mL dari gelas beaker. Campuran diaduk hingga homogen. Lalu, larutan Na-TPP 1% disiapkan dengan melarutkan Na-TPP dalam akuades, lalu ditambahkan secara *dropping* bertahap ke dalam larutan kitosan dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* pada temperatur ruang selama 60 menit. Selanjutnya, partikel (MHD) sebanyak 100 mg ditambahkan ke dalam larutan kitosan. Campuran tersebut diaduk dengan pengadukan terus menerus (60 menit) hingga homogeny dan dilakukan *freeze dry*. Dilakukan prosedur yang sama untuk mensintesis NK-TPP-MHD pada perbandingan (1:2, 100 mg kitosan dan 200 mg partikel MHD) serta (1:3, 100 mg kitosan dan 300 mg partikel MHD) . Kemudian dikarakterisasi ukuran partikel menggunakan *Particle Size Analyzers* (PSA) (Fatoni *et al.*, 2021)

### 3.3.6 Uji Aktivitas Antimikroba

Aktivitas antimikroba diuji terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *fungi* patogen *Malassezia globosa* dengan metode difusi agar (Qian *et al.*, 2017).

#### 3.3.6.1 Uji Aktivitas Antibakteri

Metode difusi sumuran dilakukan sebagai modifikasi dari metode difusi cakram (Khawaja *et al.*, 2018) dengan sedikit modifikasi. Ring oxford (diameter 8 mm) diletakkan di atas agar MH menggunakan pinset steril dan diisi dengan 50  $\mu$ L larutan NK-TPP-Mineral Hasil Demineralisasi (MHD) (10mg/mL) dalam metanol 12,5% (10 mg/mL). Plat dengan *S. aureus* diinkubasi pada suhu 37°C selama 18

jam. Ciprofloxacin 5 mg/mL digunakan sebagai kontrol positif dan metanol 12,5% digunakan sebagai kontrol negatif. Tes dilakukan dalam rangkap tiga.

### 3.3.6.2 Uji Aktivitas Antifungi

Metode difusi sumuran dilakukan sebagai modifikasi dari metode difusi cakram (Khawaja *et al.*, 2018) dengan sedikit modifikasi. Ring oxford (diameter 8 mm) diletakkan di atas agar MH menggunakan pinset steril dan diisi dengan 50  $\mu$ L larutan NK-TPP-Mineral Hasil Demineralisasi (MHD) (10mg/mL) dalam asam asetat 0,5% (10 mg/mL). Plat dengan *M.globosa* diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam. Ketoconazole 5 mg/mL digunakan sebagai kontrol positif dan asam asetat 0,5% digunakan sebagai kontrol negatif. Tes dilakukan dalam rangkap tiga.

### 3.3.7 Karakterisasi Kitosan Menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)

Kitosan hasil isolasi dikarakterisasi menggunakan spektroskopi *Fourier Transform Infra Red* (FTIR). FTIR digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi dan menentukan derajat deasetilasi dengan frekuensi antara 4000  $\text{cm}^{-1}$  sampai dengan 400  $\text{cm}^{-1}$  (Sulistyani dan Huda, 2018). Derajat deasetilasi dihitung dengan cara sebagai berikut :

$$A_{1320}/A_{1420} = 0.3822 - 0.03133\text{DA}(\%) \text{ (Antonino } et al., 2017).$$

### **3.3.8 Karakterisasi Nanokitosan Logam Menggunakan instrumen *Particle Size Analyzer* (PSA)**

Penentuan ukuran partikel dari nanokitosan-TTP-MHD dilakukan dengan metode *Particle Size Analyzer* (PSA). Sampel yang digunakan untuk karakterisasi ini meliputi nanokitosan-TTP-MHD. Sampel kitosan-TTP-MHD dalam kondisi basah, dianalisis menggunakan instrumen PSA (Quan *et al.*, 2013).

### **3.3.9 Analisis *Inductively Coupled Plasma–Optical Emission Spectrometry* (ICP-OES)**

Penentuan mineral yang terdapat pada filtrat hasil demineralisasi dilakukan dengan metode *Inductively Coupled Plasma* (ICP). Sampel yang digunakan untuk analisis ini meliputi padatan putih yang didapatkan pada proses kalsinasi. Sampel tersebut dalam kondisi larutan, dianalisis menggunakan instrumen ICP-OES.

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Derajat deasetilasi (DD) kitosan yang berasal dari kulit udang sebesar 83,11%.
2. Hasil kalsinasi dari filtrat hasil demineralisasi menghasilkan kadar mineral Ca dan Mg masing-masing sebesar 21.61% dan 2.51%.
3. Nanokitosan-TPP-Mineral Hasil Demineralisasi (MHD) dengan variasi jumlah perbandingan 1:1, 1:2, dan 1:3 (1:1, 100 mg kitosan dan 100 mg MHD ; 1:2, 100 mg kitosan dan 200 mg kitosan ; 1:3, 100 mg kitosan dan 300 mg MHD) mampu menghambat bakteri *S. aureus* dan *fungi M. globosa* dengan variasi jumlah perbandingan 1:2 memiliki potensi yang lebih baik dibandingkan dengan variasi jumlah perbandingan 1:1 dan 1:3 sebagai antibakteri dan antifungi.
4. Didapatkan partikel terkecil hasil dari karakterisasi menggunakan Particle Size Analyzer (PSA) pada perbandingan 1:2 sebesar 171,5 nm sedangkan partikel terbesar pada perbandingan 1:1 sebesar 249,8 nm.

## 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, penulis memberikan masukan untuk pengembangan informasi lebih lanjut mengenai NK-TPP-MHD sebagai antimikroba, pemanfaatan filtrat hasil demineralisasi isolasi kitosan, serta perlu dilakukan analisis DSC, SEM, dan TEM.



## DAFTAR PUSTAKA

- Abdelgawad, A. M., & Hudson, S. M. 2019. Chitosan nanoparticles: Polyphosphates *cross-linking* and protein delivery properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 136, 133–142.
- Akaza, N., Akamatsu, H., Takeoka, S., Sasaki, Y., Mizutani, H., Nakata, S., & Matsunaga, K. 2012. Malassezia globosa tends to grow actively in summer conditions more than other cutaneous Malassezia species. *Journal of Dermatology*, 39(7), 613–616.
- Alfian, Z. 2003. Studi Perbandingan Penggunaan Kitosan Sebagai Adsorben dalam Analisis Logam Tembaga ( $\text{Cu}^{2+}$ ) dengan Metode Pelarutan dan Perendaman. *Jurnal Sains Kimia* 7 (1): 15-17.
- Antonino, R. S. C. M. D. Q., Fook, B. R. P. L., Lima, V. A. D. O., Rached, R. Í. D. F., Lima, E. P. N., Lima, R. J. D. S., Covas, C. A. P., & Fook, M. V. L. (2017). Preparation and characterization of chitosan obtained from shells of shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). *Marine Drugs*, 15(5), 1–12.
- Ardianto, R., & Amalia, R. 2023. Optimasi Proses Deasetilasi Kitin menjadi Kitosan dari Selongsong Maggot menggunakan RSM. *Metana*, 19(1), 1–12.
- Arif, A. R., & Natsir, H. 2013. Isolasi Kitin dari Limbah Udang Putih (*Penaeus merguensis*) Secara Enzimatis Abstrak.
- Baharuddin, S. 2021. Uji Efektivitas Antijamur Kitosan Cangkang Kepiting Bakau (*Scylla sp*) Terhadap Pertumbuhan *Epidermophyton floccosum* dan *Candida albicans*. *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 2(2), 103.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79.

- Bangun, H., Tandiono, S., & Arianto, A. 2018. Preparation and evaluation of chitosan-tripolyphosphate nanoparticles suspension as an antibacterial agent. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(12), 147–156.
- Begum, K., Nur, F., & Shahid, M. S. 2019. Isolation and Characterization of *Malassezia* Species from Dandruff Samples and Determination of its Sensitivity Towards Antifungal Agents. *Bangladesh Pharmaceutical Journal*, 22(2), 146–152.
- Boudouaia, N., Bengharez, Z., & Jellali, S. 2019. Preparation and characterization of chitosan extracted from shrimp shells waste and chitosan film: application for Eriochrome black T removal from aqueous solutions. *Applied Water Science*, 9(4), 1–12.
- Boumans. 1987. *Inductively Coupled Plasma-Emission Spectroscopy-Part 1*. John Wiley & Sons. New York. Pp. 98-101
- Bungan, G. K., Aritonang, H. F., & Wuntu, A. D. 2021. Pembuatan Nanokomposit Kitosan/TiO<sub>2</sub>/Ag dan Analisis Aktivasnya Sebagai Antibakteri. *Chem. Prog.* 14(1), 32–39.
- Demarest, S. J., & Frasca, V. 2015. Differential Scanning Calorimetry in the Biopharmaceutical Sciences. *Biophysical Characterization of Proteins in Developing Biopharmaceuticals*, 287–306.
- Dompeipen, E. J., Kaimudin, M., & Dewa, R. P. 2016. Isolasi Kitin Dan Kitosan Dari Limbah Kulit Udang Isolation. *Majalah Biam*, 12(1), 32–38.
- El-Atawy, M. A., Khalil, K. D., & Bashal, A. H. 2022. Chitosan Capped Copper Oxide Nanocomposite: Efficient, Recyclable, Heterogeneous Base Catalyst for Synthesis of Nitroolefins. *Catalysts*, 12(9).
- Emelda, Safitri, & Fatmawati. 2021. Aktivitas Inhibisi Ekstrak Etanolik *Ulva lactuca* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 7(1), 43–48.
- Fathi, M., Martín, Á., & McClements, D. J. 2014. Nanoencapsulation of food ingredients using carbohydrate based delivery systems. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 39, Issue 1). Elsevier Ltd.

- Fathy, Y., Azab, W., Ebid, W., Abdeltwab, W. M., Abdelaliem, Y. F., Metry, W. A., & Eldeghedy, M. 2019. *Antimicrobial effect of Chitosan and Nano-Chitosan against some Pathogens and Spoilage Microorganisms Synbiotic dairy products View project Antimicrobial effect of Chitosan and Nano-Chitosan against some Pathogens and Spoilage Microorganisms*. 10(1), 8–15.
- Fatoni, A., Afrizal, M. A., Rasyad, A. A., & Hidayat, N. i. 2021. ZnO Nanoparticles and Its Interaction With Chitosan : Profile Spectra and Their Activity Against Bacterial. *JKPK (Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia)*, 6(2), 216.
- Garg, U., Chauhan, S., Nagaich, U., & Jain, N. 2019. Current advances in chitosan nanoparticles based drug delivery and targeting. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 9(2), 195–204.
- Hardiningtyas, S. D., Bahri, D. F., & Suptijah, P. 2022. *Aktivitas Antimikroba Pembersih Tangan Nanokitosan Cangkang Udang Sebagai Sediaan Antimicrobial Activity of Nanochitosan Shrimp Shell as a Hands Sanitizer*. 11(1), 1–8.
- Hendri, J., Ginting Suka dan Aspita Laila. 2007. Penentuan Kadar Ca dan Mg Pada Hasil Demineralisasi Optimum Kulit Udang Windu (*Penaeus monodon*) Secara Gravimetri dan Spektroskopi Serapan Atom. *J. Sains MIPA*. 13(2), 93–99.
- Hoang, N. H., Thanh, T. Le, Sangpueak, R., Treekoon, J., Saengchan, C., Thepbandit, W., Papatthoti, N. K., Kamkaew, A., & Buensanteai, N. 2022. Chitosan Nanoparticles-Based Ionic Gelation Method: A Promising Candidate for Plant Disease Management. *Polymers*, 14(4).
- Ikram, M., Muhammad Khan, A., Haider, A., Haider, J., Naz, S., Ul-Hamid, A., Shahzadi, A., Nabgan, W., Shujah, T., Shahzadi, I., & Ali, S. 2022. Facile Synthesis of La- and Chitosan-Doped CaO Nanoparticles and Their Evaluation for Catalytic and Antimicrobial Potential with Molecular Docking Studies. *ACS Omega*, 7(32), 28459–28470.
- Iriana, D. D., Sedjati, S., & Yulianto, B. 2018. Kemampuan Adsorpsi Kitosan Dari Cangkang Udang Terhadap Logam Timbal. *Journal of Marine Research*, 7(4), 303–309.

- Juariah, S. 2021. Media Alternatif Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Dari Biji Durian (*Durio Zibethinus murr*). *Meditory : The Journal of Medical Laboratory*, 9(1), 19–25.
- Kahar, A., Busyairi, M., Siswoyo, E., Wijaya, A., Nurcahya, D., Kahar, A., & Sains, J. 2022. Untuk Memproduksi Pupuk Organik Cair Kitosan Sebagai Growth Promotor. 14, 122–135.
- Khattak, S., Wahid, F., Liu, L. P., Jia, S. R., Chu, L. Q., Xie, Y. Y., Li, Z. X., & Zhong, C. 2019. Applications of cellulose and chitin/chitosan derivatives and composites as antibacterial materials: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(5), 1989–2006.
- Klongthong, W., Muangsin, V., Gowanit, C., & Muangsin, N. 2020. Chitosan Biomedical Applications for the Treatment of Viral Disease: A Data Mining Model Using Bibliometric Predictive Intelligence. *Journal of Chemistry*, 2020(February 2021).
- Komariah, A. 2014. *Staphylococcus aureus* ( in vitro ) Antibacterial Activity of Nano Chitosan on *Staphylococcus aureus* Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi FKIP UNS Biologi , Sains , Lingkungan , dan Pembelajarannya \_ . *Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi FKIP UNS*, 11(1), 371–377.
- Konoralma, K., Soedarto, S., BKIPM, Irawan, A. S., Winiati, R. P., Siti, N., Ema, K., News, U., Sawahlunto, R., Liza, S., & Darmadi, D. 2021. 16 Penyakit pada Manusia yang Disebabkan oleh Virus. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 12(1), 23–35.
- Kunjachan, S., & Jose, S. 2010. Understanding the mechanism of ionic gelation for synthesis of chitosan nanoparticles using qualitative techniques. *Asian Journal of Pharmaceutics*, 4(2), 148–153.
- Leonardi, M., Caruso, G. M., Carroccio, S. C., Boninelli, S., Curcuruto, G., Zimbone, M., Allegra, M., Torrisi, B., Ferlito, F., & Miritello, M. 2021. Smart nanocomposites of chitosan/alginate nanoparticles loaded with copper oxide as alternative nanofertilizers. *Environmental Science: Nano*, 8(1), 174–187.

- Leung, M. H. Y., Chan, K. C. K., & Lee, P. K. H. 2016. Skin fungal community and its correlation with bacterial community of urban Chinese individuals. *Microbiome*, 4, 1–15.
- Luo, Y., & Wang, Q. 2013. Recent Advances of Chitosan and Its Derivatives for Novel Applications in Food Science Beverages. *Journal of Food Processing & Beverages*, 1(1), 1–13.
- Luzyawati, L., & Hamidah, I. 2021. Pemberdayaan Masyarakat Desa Karangsong dalam Pemanfaatan Ikan Tongkol dan Limbah Kulit Udang. *Jurnal SOLMA*, 10(3), 423–430.
- Magani, A. K., Tallei, T. E., & Kolondam, B. J. 2020. Uji Antibakteri Nanokitosan Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Bios Logos*, 10(1), 7.
- Mellegard, H., Strand, S. P., Christensen, B. E., Granum, P. E., & Hardy, S. P. 2011. Antibacterial activity of chemically defined chitosans: Influence of molecular weight, degree of acetylation and test organism. *International Journal of Food Microbiology*, 148(1), 48–54.
- Miranda, K. C., de Araujo, C. R., Costa, C. R., Passos, X. S., de Fátima Lisboa Fernandes, O., & do Rosário Rodrigues Silva, M. 2007. Antifungal activities of azole agents against the *Malassezia* species. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 29(3), 281–284.
- Mohandes, F., & Salavati-Niasari, M. (2014). Freeze-drying synthesis, characterization and in vitro bioactivity of chitosan/graphene oxide/hydroxyapatite nanocomposite. *RSC Advances*, 4(49), 25993–26001.
- Mulyono, A., Ratnaningrum, K., & Kurniati, I. D. 2019. Effectiveness comparison of bitter melon fruit (*Momordica charantia L.*) extract with 2% ketoconazole in inhibiting *Pityrosporum ovale* growth in vitro. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 292(1).
- Nadia, L. M. H., Suptijah, P., & Ibrahim, B. 2014. Production and Characterization Chitosan Nano from Black Tiger Shrimp with Ionic Gelation Methods. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 17(2), 119–126.

- Nehra, P., Chauhan, R. P., Garg, N., & Verma, K. 2018. Antibacterial and antifungal activity of chitosan coated iron oxide nanoparticles. *British Journal of Biomedical Science*, 75(1), 13–18.
- Nguyen, T. V., Nguyen, T. T. H., Wang, S. L., Vo, T. P. K., & Nguyen, A. D. 2017. Preparation of chitosan nanoparticles by TPP ionic gelation combined with spray drying, and the antibacterial activity of chitosan nanoparticles and a chitosan nanoparticle–amoxicillin complex. *Research on Chemical Intermediates*, 43(6), 3527–3537.
- Oh, J. W., Chun, S. C., & Chandrasekaran, M. 2019. Preparation and in vitro characterization of chitosan nanoparticles and their broad-spectrum antifungal action compared to antibacterial activities against phytopathogens of tomato. *Agronomy*, 9(1).
- Pan, C., Qian, J., Fan, J., Guo, H., Gou, L., Yang, H., & Liang, C. 2019. Preparation nanoparticle by ionic cross-linked emulsified chitosan and its antibacterial activity. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 568, 362–370.
- Parubak, S. A. 2013. Senyawa Flavonoid yang Bersifat Antibakteri dari Akway (Drimys beccariana. Gibbs). *Chem. Prog.*, 6(1), 34–37.
- PerkinElmer. 2013. *Differential Scanning Calorimetry (DSC) (Frequently asked questions)*. 1–8.
- Pratiwi, R. S., Susanto, T. E., Alpha, Y., Wardani, K., & Sutrisno, A. 2014. Enzim Kitinase Dan Aplikasi Di Bidang Industri. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(3), 878–887.
- Prayogo, T. B. 2015. *Analisis kualitas air dan strategi pengendalian pencemaran air sungai metro di kota kepanjen kabupaten malang*. 6(2), 105–114.
- Putri, G. M., & Atun, S. 2017. Pembuatan dan karakterisasi nanokitosan ekstrak etanol temu kunci . *Jurnal Kimia Dasar*.19–26.
- Qian, J., Pan, C., & Liang, C. 2017. Antimicrobial activity of Fe-loaded chitosan nanoparticles. *Engineering in Life Sciences*, 17(6), 629–634.

- Quan, J., Kim, S. M., Pan, C. H., & Chung, D. 2013. Characterization of fucoxanthin-loaded microspheres composed of cetyl palmitate-based solid lipid core and fish gelatin-gum arabic coacervate shell. *Food Research International*, 50(1), 31–37.
- Raafat, D., Von Bargen, K., Haas, A., & Sahl, H. G. 2008. Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(12), 3764–3773.
- R, M. A., Yuliandri, R., & Syawaalz, A. 2017. Isolasi Dan Karakterisasi Kitin Dari Limbah Udang. *Jurnal Sains Natural*, 1(2), 166.
- Rudramurthy, S. M., Honnavar, P., Chakrabarti, A., Dogra, S., Singh, P., & Handa, S. 2014. Association of *Malassezia* species with psoriatic lesions. *Mycoses*, 57(8), 483–488.
- Said Al Hoqani, H. A., AL-Shaqsi, N., Hossain, M. A., & Al Sibani, M. A. 2020. Isolation and optimization of the method for industrial production of chitin and chitosan from Omani shrimp shell. *Carbohydrate Research*, 492(March), 108001.
- Sam, I. S., & Putri, S. E. 2022. *Sintesis Nanokitosan dari Limbah Kulit Udang Windu (Panaeus monodon)* Synthesis of Nanochitosan from Tiger Shrimp Sell Waste ( *Panaeus monodon* ). XI(1), 59–67.
- Sanchez-Lopez, E., Gomes, D., Esteruelas, G., Bonilla, L., Lopez-Machado, A. L., Galindo, R., Cano, A., Espina, M., Ettcheto, M., Camins, A., Silva, A. M., Durazzo, A., Santini, A., Garcia, M. L., & Souto, E. B. 2020. Metal-based nanoparticles as antimicrobial agents: An overview. *Nanomaterials*, 10(2), 1–43.
- Setiati, R., Siregar, S., Wahyuningrum, D., & Fathaddin, M. T. 2021. Potensi Keberhasilan Kulit Udang Sebagai Bahan Dasar Polimer Kitosan: Studi Literatur. *Jurnal Penelitian Dan Karya Ilmiah Lembaga Penelitian Universitas Trisakti*, 6(1), 156–164.
- Sivakumar, P., Priyatharshni, S., Nagashanmugam, K. B., Thanigaivelan, A., & Kumar, K. 2017. Chitosan capped nanoscale Fe-MIL-88B-NH<sub>2</sub> metal-organic framework as drug carrier material for the pH responsive delivery of doxorubicin. *Materials Research Express*, 4(8).

- Solihudin, Rustaman, & Haryono. 2020. *Chimica et Natura Acta. Chimica et Natura Acta*, 8(1), 42–49.
- Sulistiyani, M., & Huda, N. 2018. Perbandingan Metode Transmisi dan Reflektansi Pada Pengukuran Polistirena Menggunakan Instrumentasi Spektroskopi Fourier Transform Infra Red. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(2), 195–198.
- Suptijah, P., Jacob, A. M., & Rachmania, D. 2011. Characterization Chitosan Nano from White Shrimp Shells (*Litopenaeus vannamei*) with Ionic Gelation Methods. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, XIV(2), 78–84.
- Tammi, A. 2015. Aktifitas Antibakteri Buah Makasar (*Brucea javanica*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *J Agromed Unila*, 2(2), 100.
- Trakoolwannachai, V., Kheolamai, P., & Ummartyotin, S. 2019. Development of hydroxyapatite from eggshell waste and a chitosan-based composite: In vitro behavior of human osteoblast-like cell (Saos-2) cultures. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134, 557–564.
- Wahyuni, S., Selvina, R., Fauziyah, R., Prakoso, H. T., Priyono, P., & Siswanto, S. 2020. Optimasi Suhu dan Waktu Deasetilasi Kitin Berbasis Selongsong Maggot (*Hermetia ilucens*) Menjadi Kitosan. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 25(3), 373–381.
- Widyastuti, W., Setiawan, F., Afandy, C. Al, Irawan, A., Laila, A., Luh, N., Ratna, G., Setiawan, W. A., Arai, M., Hendri, J., & Setiawan, A. 2022. *Antifungal Agent Chitooligosaccharides Derived from Solid-State Fermentation of Shrimp Shell Waste by Pseudonocardia antitumoralis 18D36-A1*.
- Widyastuti, W. 2023. Perbandingan Karakteristik dan Kualitas Kitosan dari Kulit Udang Jerbung (*Penaeus merguensis de Man*) dan Udang Windu (*Penaeus monodon Fabricius*). 2(1), 1.
- Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. W. 2008. *Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances*. 3(2), 163–175.



- Wu, T., Chen, M., Zhou, L., Lu, F., Bie, X., & Lu, Z. 2020. Bacillomycin D effectively controls growth of *Malassezia globosa* by disrupting the cell membrane. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(8), 3529–3540.
- Younes, I., Sellimi, S., Rinaudo, M., Jellouli, K., & Nasri, M. 2014. Influence of acetylation degree and molecular weight of homogeneous chitosans on antibacterial and antifungal activities. *International Journal of Food Microbiology*, 185, 57–63.
- Yudhasasmita, S., & Puspito Nugroho, A. 2017. Sintesis dan Aplikasi Nanokitosan Kitosan Sebagai Adsorben Cd dan Antibakteri Koliform. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 5(1), 42–48.
- Zore, G. B., Thakre, A. D., Rathod, V., & Karuppayil, S. M. 2011. Evaluation of anti-Candida potential of geranium oil constituents against clinical isolates of *Candida albicans* differentially sensitive to fluconazole: Inhibition of growth, dimorphism and sensitization. *Mycoses*, 54(4).