

Aktivitas Antimikroba Nanokitosan Cangkang Udang Sebagai Sediaan Pembersih Tangan

Antimicrobial Activity of Nanochitosan Shrimp Shell as a Hands Sanitizer

Safrina Dyah Hardiningtyas^{1*}, Dona Fradilla Bahri¹, dan Pipih Suptijah¹

¹ Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Jawa Barat, Indonesia

Koresponding: Safrina Dyah Hardiningtyas, Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Jawa Barat, Indonesia

Email: safrina_dyah@apps.ipb.ac.id

Abstrak

Kitosan merupakan biopolimer yang dapat diekstrak dari krustasea, seperti cangkang udang. Kitosan banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang, seperti farmasi, pangan, dan kosmetik karena memiliki sifat biodegradable, tidak toksik, dan memiliki aktivitas antibakteri. Nanokitosan merupakan bentuk sediaan berbasis teknologi nano yang memiliki sifat lebih reaktif. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkarakterisasi kitosan dan nanokitosan serta mengevaluasi efektivitas nanokitosan sebagai antibakteri dalam pembersih tangan. Pengujian yang dilakukan meliputi analisis gugus fungsi kitosan dengan FTIR, analisis ukuran partikel dengan *particle size analyzer*, analisis morfologi nanokitosan dengan SEM, dan analisis efektivitas pembersih tangan. Kitosan uji yang digunakan memiliki derajat deasetilasi sebesar 85,94%. Distribusi ukuran partikel nanokitosan sebesar 140,94 nm dengan *polydisperse intensity* (PDI) sebesar 0,5830. Hasil uji efektivitas antibakteri nanokitosan sebagai pembersih tangan menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi nanokitosan yang digunakan, maka total koloni bakteri akan semakin berkurang. Konsentrasi nanokitosan 2000 ppm dapat menurunkan 93,4% koloni bakteri pada tangan probandus, dan aktivitas ini diketahui tidak berbeda nyata dengan pembersih tangan komersial.

Kata kunci: antibakteri, nanokitosan, pembersih tangan.

Abstract

Chitosan is a biopolymer that can be extracted from crustaceans, such as shrimp shells. Chitosan is widely used in various fields, such as pharmaceuticals, food, and cosmetics because it is biodegradable, non-toxic, and has antibacterial activity. Nanochitosan is a dosage form based on nanotechnology which has more reactive properties. The purpose of this study was to characterize chitosan and nanochitosan and evaluate the effectiveness of nanochitosan as an antibacterial in hand sanitizer. The tests carried out included analysis of the functional group of chitosan with FTIR, particle size analysis with particle size analyzer, morphological analysis of nanochitosan with SEM, and analysis of the effectiveness of hand sanitizers. The test chitosan used had a degree of deacetylation of 85.94%. The particle size distribution of nanochitosan was 140.94 nm with a polydispersion intensity (PDI) of 0.5830. The results of the antibacterial effectiveness test of nanochitosan as a hand sanitizer showed that the higher the concentration of nanochitosan used, the total bacterial colonies would decrease. The concentration of 2000 ppm nanochitosan can reduce 93.4% of bacterial colonies on probandus hands, and this activity is known to be not significantly different from commercial hand sanitizers.

Keywords: antibacterial, nanochitosan, hand sanitizer.

1. Pendahuluan

Tangan merupakan salah satu bagian tubuh yang memiliki fungsi vital bagi manusia, salah satunya adalah untuk berinteraksi dengan lingkungannya. Kebersihan kulit, khususnya pada tangan merupakan salah satu langkah penting dalam upaya mengurangi dan mencegah penyebaran agen infeksi (Badar *et al.*, 2014). Pencucian tangan merupakan salah satu cara yang sering dilakukan dan dapat mereduksi jumlah bakteri patogen yaitu *Escherichia coli*, *Staphylococcus marcescens*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Kampf and Kramer 2004). Cuci tangan dengan sabun adalah salah satu cara mengurangi jumlah mikroba patogen pada tangan. Namun, pada kondisi tertentu hal ini sulit dilakukan. Penggunaan *hand sanitizer* merupakan solusi yang dapat dilakukan pada kondisi tersebut, dimana penggunaannya sangat praktis dan dapat membunuh mikroba pada tangan.

Saat ini telah banyak diproduksi *hand sanitizer* secara komersial, dengan kandungan alkohol yang cukup tinggi dan trikloksan sebagai zat antimikroba. Penggunaan *hand sanitizer* yang mengandung zat kimia tersebut diketahui memiliki efek samping, yaitu dapat menyebabkan kasus *allergic contact dermatitis* setelah kontak dengan etil alkohol atau menimbulkan reaksi alergi ketika kulit yang diberi trikloksan terpapar sinar matahari (*photoallergic contact dermatitis*, PACD) sehingga menimbulkan ruam, umumnya pada bagian wajah, leher, dan punggung tangan (APUA, 2011). Oleh karena itu, diperlukan zat antibakteri lain yang lebih aman bagi kulit jika dipakai secara rutin dalam jangka panjang.

Kitosan merupakan polimer alami yang dapat diekstrak dari cangkang krustasea seperti udang. Kitosan diketahui memiliki aktivitas antimikroba sehingga berpotensi sebagai zat antibakteri alami pada produk *hand sanitizer*. Kitosan bersifat antimikroba karena memiliki muatan positif yang berasal dari gugus amina pada polimer tersebut sehingga dapat berinteraksi dengan dinding sel bakteri dan menyebabkan sel bakteri

rusak (Abdou *et al.*, 2012). Adapun bakteri patogen yang mampu dimusnahkan yaitu *Escherichia coli*, *Staphylococcus marcescens*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Kampf and Kramer 2004). Keunggulan lain dari kitosan adalah *biodegradable*, *bio-compatible* dan tidak toksik. Hasil penelitian Avadi *et al.* (2004), menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri kitosan akan meningkat apabila dilakukan rekayasa fisik kitosan menggunakan nanoteknologi yang menghasilkan nanokitosan. Pembentukan nanokitosan menghasilkan kepadatan muatan permukaan yang lebih banyak berkomunikasi dengan bakteri pada tingkat yang lebih besar daripada larutan kitosannya saja.

Nanokitosan dapat disintesis dengan beberapa metode. Metode gelasi ionik merupakan salah satu teknik pembuatan nanopartikel kitosan *bottom-up* 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). Menurut Qi *et al.* (2004), nanokitosan bersifat lebih reaktif terhadap sel bakteri dibandingkan kitosan, karena mudah teradsorpsi ke dalam sel bakteri dalam waktu yang lebih cepat. Akan tetapi, penentuan konsentrasi nanokitosan sebagai pembersih tangan/*hand sanitizer* masih belum diketahui. Tujuan penelitian ini adalah mengkaraktisasi kitosan dan nanokitosan dan menentukan konsentrasi nanokitosan yang efektif sebagai antibakteri pada pembersih tangan.

2. Material dan Metode

Material

Kitosan serpihan berbahan dasar cangkang udang yang diproduksi oleh PT Biotech Surindo, asam asetat (Merck), alkohol, akuades, air steril, tripolifosfat (Bratachem), surfaktan (Tween 80) (Bratachem), dan media *Nutrient Agar* (Merck).

Metode

Penelitian ini dibagi menjadi tiga tahapan, yaitu karakterisasi kitosan, sintesis dan karakterisasi nanokitosan, dan uji efektifitas antibakteri nanokitosan pada probandus.

Karakterisasi Kitosan

Serpihan kitosan yang diperoleh dilakukan beberapa analisis sesuai dengan SNI 7949:2013, antara lain bentuk serpihan, analisis kadar air, kadar abu, dan kadar nitrogen mengacu *Association of Official Analytical Chemist* (AOAC) (2005) dan analisis *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR) dioperasikan menurut *American Standard Testing and Material* (ASTM) E1252 (2013) serta perhitungan derajat deasetilasi dari kitosan mengacu pada Khan *et al.* (2002).

Sintesis dan Karakterisasi Nanokitosan

Nanokitosan disintesis dengan metode ionik gelas yang mengacu pada Suptijah *et al.* (2011). Tahap pertama dilakukan pembuatan larutan stok kitosan dalam 50 mL asam asetat 1% dengan konsentrasi 30 mg/mL. Larutan kitosan tersebut selanjutnya ditambah akuades hingga 500 mL menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu ruang (25°C) selama 2 jam. Lalu, larutan kitosan ditambah Tween 80 0,1% sebanyak 4 kali penyemprotan dan diaduk selama 30 menit. Tahap berikutnya adalah stabilisasi dengan penambahan tripolifosfat (TPP) 0,1% sebanyak 100 m setetes demi setetes. Pengadukan terus dilakukan selama 1 jam agar proses ikatan silang berlangsung sempurna dan nanopartikel yang dihasilkan tetap stabil. Konsentrasi akhir nanokitosan yang diperoleh pada proses ini sebesar 2500 ppm. Ukuran partikel nanokitosan dianalisis dengan *Particle Size Analyzer* (PSA), sedangkan morfologi nanokitosan diamati dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM). Analisis selanjutnya yaitu pengujian efektifitas pembersih tangan dengan konsentrasi 1000 ppm, 1500 ppm, 2000 ppm, dan pembersih tangan komersial.

Uji Efektifitas Antimikroba Nanokitosan pada Probandus

Pengujian efektifitas pembersih tangan mengacu Babeluk *et al.* (2014). Modifikasi dari Babeluk *et al.* (2014) adalah pada jumlah probandus yang digunakan, yaitu sebanyak 12 orang. Probandus tersebut kemudian dibagi menjadi empat kelompok. Tahapan pengujian efektifitas pembersih tangan terdiri dari dua tahapan yaitu: 1) pra-perlakuan yaitu pencucian tangan menggunakan air steril kepada seluruh probandus dengan menerapkan prosedur *hand disinfection* EN1500, dan 2) aplikasi *hand sanitizer*, baik *hand sanitizer* berbasis nanokitosan dengan konsentrasi 1000 ppm, 1500 ppm, dan 2000 ppm, serta *hand sanitizer* komersial yang berbasis alkohol 70%.

Aplikasi pengujian efektifitas pembersih tangan, diawali dengan pra-perlakuan lalu dilakukan penempelan tiga ujung jari tangan kiri pada cawan Petri yang berisi media *Nutrient Agar* (NA). Probandus kemudian melakukan aktivitas kembali selama 30 menit. Setelah 30 menit, dilakukan penerapan *hand sanitizer* berbasis nanokitosan atau berbasis alkohol 70% sebanyak 6 kali semprot lalu menerapkan prosedur *hand disinfection* EN1500, setelah itu dilakukan penempelan tiga ujung jari tangan kanan pada cawan petri yang telah berisi media *Nutrient Agar* (NA).

Cawan Petri hasil penempelan tiga ujung jari tersebut selanjutnya diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C. Tahap selanjutnya yaitu pengamatan dan perhitungan jumlah koloni bakteri yang terdapat dalam cawan. Persentase efektifitas merupakan penurunan jumlah total koloni bakteri dari pembersih tangan dihitung dari hasil yang telah didapatkan pada pengujian efektifitas pembersih tangan. Persentase efektifitas pembersih tangan diperoleh dengan rumus: Efektivitas Pembersih Tangan (%) = $(B - A) / A \times 100\%$, dimana A = jumlah koloni bakteri sebelum diberikan perlakuan pembersih tangan, dan B = jumlah koloni bakteri setelah diberikan perlakuan pembersih tangan.

Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak kelompok (RAK) yaitu dengan melibatkan pengamatan berulang terhadap satu objek. Perlakuan yang diberikan yaitu konsentrasi nanokitosan 1000 ppm, 1500 ppm, 2000 ppm, dan pembersih tangan komersial. Semua perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Data persentase efektivitas pembersih tangan pada probandus dianalisis sidik ragam (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh perlakuan konsentrasi pembersih tangan berbasis nanokitosan terhadap penurunan total koloni bakteri pada ujung jari dengan selang kepercayaan 95%. Jika perlakuan berpengaruh nyata ($p < 0,05$) maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil. Analisis menggunakan aplikasi Data Analysis pada Ms. Excel.

3. Hasil dan Pembahasan

Karakteristik Serbuk Kitosan Cangkang Udang

Kitosan yang digunakan pada penelitian merupakan kitosan komersial, sehingga perlu dianalisis ulang terkait dengan karakteristiknya. Persyaratan mutu kitosan terdapat pada SNI 7949:2013. Hasil uji beberapa parameter

pada kitosan disajikan pada Tabel 1. Kitosan yang digunakan dalam penelitian ini mempunyai karakteristik yang telah memenuhi standar mutu kitosan (Tabel 1). Kadar air, abu dan nitrogen dalam kitosan yang digunakan pada penelitian ini memiliki nilai yang lebih rendah dari batas maksimum yang disyaratkan SNI. Kadar air yang rendah menunjukkan bahwa proses pengeringan kitosan sudah dilakukan dengan baik. Kadar abu menunjukkan kandungan mineral yang terdapat dalam kitosan. Kadar abu yang rendah dalam sampel kitosan menunjukkan proses demineralisasi pada proses ekstraksi telah berhasil dan proses pencucian yang baik pada tahapan netralisasi (Angka and Suhartono, 2000).

Derajat deasetilasi kitosan yang digunakan pada penelitian ini lebih tinggi dari yang disyaratkan, yaitu 85,95%. Derajat deasetilasi merupakan parameter yang menentukan karakteristik dari kitosan, baik sifat kelarutannya hingga aktivitas biologisnya, terutama sebagai antimikroba. Agustini and Sedjati (2007) menjelaskan bahwa semakin tinggi derajat deasetilasi kitosan maka semakin banyak gugus amina pada rantai molekul kitosan, sehingga kitosan semakin reaktif karena banyaknya gugus amina yang menggantikan gugus asetil.

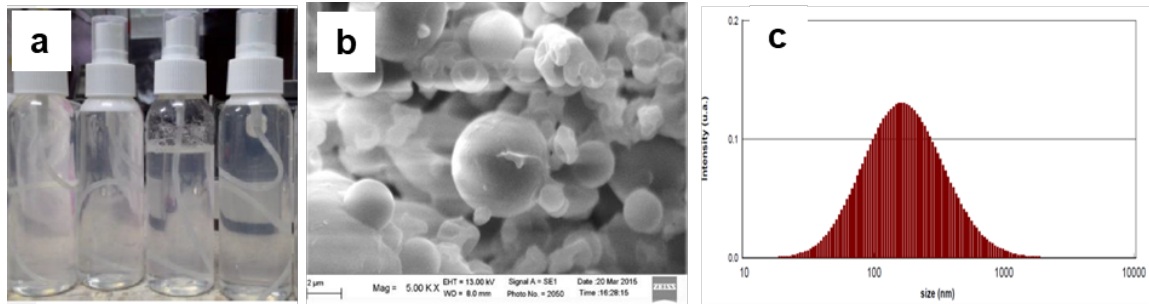
Tabel 1. Karakteristik kitosan dibandingkan dengan syarat mutu SNI 7949: 2013

Sifat	Hasil Penelitian	SNI 7949:2013
Bentuk partikel	Serpihan	Serpihan sampai serbuk
Kadar Air (%)	9,65	Maks 12%
Kadar Abu (%)	0,87	Maks 5%
Kadar Nitrogen (%)	4,03	Maks 5%
Derajat Deasetilasi (%)	85,94	Min 75%

Karakteristik Nanokitosan dari Cangkang Udang

Sintesis nanokitosan cangkang udang telah berhasil terbentuk, yang ditunjukkan oleh larutan yang translusen dengan sedikit *opalescence* (Gambar 1a). Menurut Kaasalainen *et al.* (2017), terbentuknya *opalescence* dapat dijadikan

indikator terbentuknya nanopartikel pada proses sintesis nanopartikel polimer yang dapat dikonfirmasi dengan menggunakan *dynamic laser scattering* (DLS). Yan *et al.* (2020) juga berpendapat bahwa jika terbentuk larutan translusen dengan sedikit *opalescence* menunjukkan terbentuknya partikel yang kecil.



Gambar 1. Karakteristik nanokitosan dari cangkang udang. a) Kenampakan visual larutan nanokitosan, b) morfologi kitosan diamati dengan SEM (perbesaran 5000x), c) ukuran partikel larutan nanokitosan

Gambar 1b menunjukkan bahwa partikel yang terbentuk bulat halus seperti bola dengan ukuran yang heterogen. Rataan ukuran partikel dari nanokitosan berdasarkan hasil analisis menggunakan *particle size analyzer* sebesar 140,92 nm (Gambar 1c) dengan indeks polidispersi sebesar 0,583. Nilai Pdl yang mendekati 0 menunjukkan bahwa distribusi ukuran partikel memiliki jenis partikel yang seragam atau homogen, sedangkan nilai Pdl > 0,5 menunjukkan distribusi ukuran partikel dengan tingkat heterogen yang tinggi (Taurina *et al.*, 2017). Ukuran partikel dari nanokitosan berpengaruh terhadap aktivitas biologisnya, terutama antibakteri Partikel yang berukuran lebih kecil menunjukkan aktivitas antibakteri lebih besar dibandingkan dengan ukuran partikel yang lebih besar. Beberapa

parameter mengontrol ukuran nanopartikel dan akibatnya mempengaruhi respon antibakteri, antara lain konsentrasi, pH, zeta-potensial, MW, dan DA (Chandrasekaran *et al.*, 2020).

Nilai pH suatu sediaan topikal merupakan syarat minimal harus dipenuhi agar efek samping terhadap kulit minim. Suatu antiseptik topikal harus memiliki nilai pH sesuai dengan pH kulit yaitu 4,5-6,5 karena apabila pH tidak sesuai maka akan menimbulkan iritasi pada kulit yang terpapar (Titaley *et al.*, 2014). Nilai pH nanokitosan dari berbagai konsentrasi dan pembersih tangan komersial memiliki nilai pH sesuai dengan rentang yang ditentukan (Tabel 2). Terpenuhinya standar nilai pH tersebut diharapkan dapat menurunkan resiko iritasi dari produk *hand sanitizer* berbasis nanokitosan.

Tabel 2. Nilai pH dari nanokitosan dengan berbagai konsentrasi dan pembersih tangan komersial

Sampel	pH larutan
Nanokitosan 1000 ppm	5,35±1,51
Nanokitosan 1500 ppm	5,44±1,48
Nanokitosan 2000 ppm	6,11±1,31
Pembersih tangan komersial	6,11±1,2

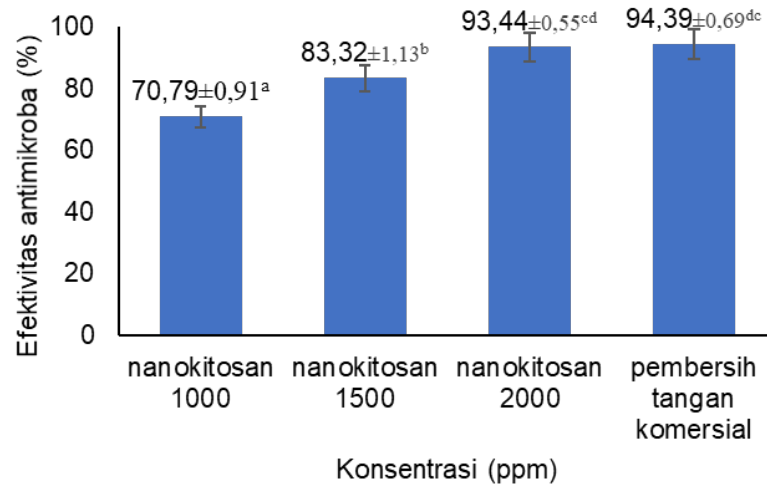
Efektivitas Nanokitosan sebagai Antimikroba pada Hand Sanitizer

Efektivitas antimikroba pada Gambar 2 menunjukkan nilai persentase penurunan jumlah total koloni mikroba (bakteri) pada tangan probandus setelah aplikasi *hand sanitizer* berbasis nanokitosan atau berbasis alkohol (produk

komersial). Hasil uji menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi nanokitosan memberikan pengaruh terhadap efektivitas antimikroba pada tangan probandus secara signifikan ($p < 0,05$). Konsentrasi nanokitosan tertinggi, yaitu 2000 ppm memiliki efektivitas tertinggi dan setara dengan produk *hand sanitizer* komersial yang berbasis alkohol 70%. Hal ini

menunjukkan bahwa nanokitosan berpotensi sebagai zat antimikroba alami untuk produk *hand sanitizer*. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Mohammadi *et al.* (2016) yang menunjukkan bahwa efek penghambatan

terhadap bakteri meningkat seiring meningkatnya konsentrasi nanokitosan (dari 0,009% menjadi 0,15% b/v) dan secara signifikan ($p < 0,05$) berkorelasi dengan jenis nanokitosan dan jenis bakteri.



Gambar 2. Efektivitas antimikroba nanokitosan pada probandus

Peningkatan efektivitas antimikroba pada konsentrasi nanokitosan yang tinggi diduga akibat jumlah gugus-gugus amina yang reaktif pada nanokitosan tersebut lebih banyak sehingga dapat mengakibatkan lisis pada sel bakteri. Menurut Abdou *et al.* (2012) mengemukakan bahwa peningkatan konsentrasi dapat mengakumulasi gugus reaktif nanokitosan yaitu gugus amina (NH₂), sehingga mempunyai efektivitas lebih besar untuk merusak dinding sel bakteri. Selain itu, penelitian Zhang *et al.* (2010) menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri dapat meningkat seiring dengan konsentrasi yang lebih tinggi dan ukuran partikel yang lebih kecil. Menurut Solval *et al.* (2014), nanokitosan memiliki efektivitas antibakteri yang lebih tinggi daripada kitosan karena nanokitosan memiliki luas permukaan yang lebih besar, sehingga interaksi antara gugus amina (NH₂) dengan membran sel bakteri lebih besar. Mekanisme nanokitosan sebagai antibakteri, yaitu mengganggu dinding sel dan membran sel bakteri, sehingga menyebabkan molekul intraseluler keluar dan kematian sel bakteri (Chandrasekaran *et al.*, 2020). No *et al.* (2002) berpendapat bahwa kitosan memiliki efek antibakteri yang besar pada bakteri Gram positif

dibandingkan Gram negatif.

4. Kesimpulan

Morfologi nanokitosan memiliki bentuk partikel berupa bulatan, dengan ukuran sebesar 140,94 nm dan indeks polidispersi sebesar 0,5830. Efektivitas nanokitosan sebagai alternatif zat antibakteri alami dalam produk pembersih tangan pada konsentrasi 2000 ppm tidak berbeda nyata dengan pembersih tangan komersial. Persentase efektivitas penurunan total koloni bakteri masing-masing sebesar 93,44 ± 0,55% dan 94,39 ± 0,69%. Nanokitosan berpotensi sebagai zat antibakteri alami pada produk pembersih tangan/ *hand sanitizer*. Untuk melengkapi penelitian ini, diperlukan penelitian efektivitas antibakteri nanokitosan sebagai pembersih tangan untuk keseluruhan telapak tangan, serta variasi formulasi dari sediaan pembersih tangan tersebut dengan penambahan pelembab dan esens.

Daftar Pustaka

Abdou, E.S., Osheba, A.S., & Sorour, M.A.. (2012). Effect of chitosan and chitosan nanoparticles as active coating on microbiological

- characteristics of fish fingers. *Journal of Applied Science and Technology*. 2:158-163.
- Agustini, T.W., & Sedjati, S. (2007). The effect of chitosan concentration and storage time on the quality of salted dried anchovy (*Stolephorus heterolobus*). *Journal of Coastal Development*. 10:63-71.
- Angka, S. L., & Suhartono, M.T. (2000). Bioteknologi hasil laut: pemanfaatan limbah hasil laut. Bogor (ID): Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan.
- [AOAC] Association of official analytical chemist. (2005). Washington (US): The Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- [APUA] Alliance for the Prudent Use of Antibiotics. (2011). Triclosan. www.apua.org, dapat diakses di www.tufts.edu/med/apua [3 Mei 2015].
- [ASTM] American Standard Testing and Material. (2013). ASTM E1252: Standard practice for general techniques for obtaining infrared spectra for qualitative analysis. Pennsylvania (US): American Society for Testing Material
- Avadi, M., Sadeghi, A., Tahzibi, A., Bayati, K., Pouladzadeh, M., Zohuriaan-Mehr, M., & Rafiee-Tehrani, M. (2004). Diethylmethyl chitosan as an antimicrobial agent: Synthesis, characterization and antibacterial effects. *European Polymer Journal*, 40:1355-1361.
- Babeluk, R., Jutz, S., Mertlitz, S., Matlasek, J., & Klaus, C. (2014). Hand hygiene-evaluation of three disinfectant hand-sanitizer in a community setting. *A Public Health Setting: Hand Rubs in Comparison*. 9(11):1-7.
- Badar, E. G. B., Arances, Z. G., Cayumo, J. P., Cirunay, I. M. A., Cirunay, L. M. D., Lumano, M. V., & Tan, N. R. B. (2014). The antibacterial effectiveness of select commercial hand-sanitizers against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal Advancing Medical Technology Research*. 2:106-130.
- Chandrasekaran, M., Kim, K. D., & Chun, S. C. (2020) Antibacterial activity of chitosan nanoparticles: A review. *Processes*. 8(9):1173. <https://doi.org/10.3390/pr8091173>.
- Kaasalainen, M., Aseyev, V., von Haartman, E., Karaman, D. S., Makila, E., Tenhu, H., Rosenholm, J., & Salonen, J. (2017). Size, stability, and porosity of mesoporous nanoparticles characterized with light scattering. *Nanoscale Reserach Letters*, 12:74-84.
- Kampf, G., & Kramer, A. (2004). Epidemiologic background of hand hygiene and evaluation of the most important agent for scrubs and rubs. *Clinical Microbiology* 17(4):863-893.
- Khan, T. A., Peh, K. K., & Chang, H. S. (2002). Reposting degree of deacetylation values of chitosan: the influence of analytical methods. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. 5(3):205-2012.
- Mohammadi, A., Hashemi, M., & Hosseini, S. M. (2016). Effect of chitosan molecular weight as micro and nanoparticles on antibacterial activity against some soft rot pathogenic bacteria. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 71:347-355.
- No, H. K., Park, N. Y., Lee, S. H., & Meyers, S.,P. (2002). Antibacterial activity of chitosan and chitosan oligomers with different molecular

- weights. *International Journal of Food Microbiology*. 74:65-72.
- Qi, L., Xu, Z., Jiang, X., Caihong, H., & Zou, X. (2004). Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. *Journal Carbohydrate Research*. 339: 2693-2700.
- Solval, K. A., Rodezno, L. A. E., Moncada, M., Bankston, D., & Sthaviel, S. (2014). Evaluation of chitosan nanoparticles as a glazing material for cryogenically frozen shrimp. *Journal Food Science and Technology*. 57:172-180.
- [SNI] Standar Nasional Indonesia. 7949- (2013). Kitosan, syarat mutu dan pengolahan. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- Suptijah, P., Jacob, M.A., & Rachamania, D. (2011). Karakterisasi nanokitosan cangkang udang vannamei (*Litopenaus vannamei*) dengan metode gelasi ionik. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 17(2):78-84.
- Taurina, W., Sari, R., Hafinur, U. C., Wahdaningsih, S., & Isnindar. (2017). Optimasi kecepatan dan lama pengadukan terhadap ukuran nanopartikel kitosan ekstrak etanol 70% kulit jeruk siam (*Citrus nobilis L. var Microcarpa*). *Traditional Medicine Journal*. 22(1):16-20
- Titaley, S., Fatimawali, & Lolo, W. A. (2014). Formulasi dan uji efektivitas sediaan gel ekstrak etanol daun mangrove api-api (*Avicennia marina*) sebagai antiseptik tangan. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 3(2):99-106.
- Yan, Q., Weng, J., Wu, X., Wang, W., Yang, Q., Guo, F., Wu, D., Song, Y., Chen, F., & Yang, G. (2020). Characteristics, cryoprotection evaluation and in vitro release of BSA-loaded chitosan nanoparticles. *Marine Drugs*. 18(6):315.
- Zhang, L., Jiang, Y., Ding, Y., Daskalakis, D., Jeuken, L., Povey, M., & O'Neill, D. W. (2010). Mechanistic investigation into antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticle against *E.coli*. *Journal of Nanoparticle Research*. 23:1625-1636.