

The Effectiveness Of Chitosan Nanoemulgel From Shellfish (*Corbula faba*) In Inhibiting *Staphylococcus aureus* And *Pseudomonas aeruginosa* Bacteria

[Efektivitas Nanoemulgel Kitosan Cangkang Kupang (*Corbula faba*) Dalam Menghambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Pseudomonas aeruginosa*]

Nur Khikmah¹⁾, Chylen Setiyo Rini¹⁾*

Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

*Email : chylensetiyorini@umsida.ac.id

Abstract. Infectious diseases caused by *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* bacteria have become a global challenge due to the increasing risk of antibiotic resistance. Chitosan is a natural material obtained from the shells of marine animals such as shrimp and crabs. This study aims to test the effectiveness of chitosan nanoemulgel extracted from mussel shell waste (*Corbula faba*) in inhibiting the growth of *S. aureus* and *P. aeruginosa* bacteria. This study was an experimental laboratory study using the Kirby-Bauer disk diffusion technique to observe the effect of chitosan nanoemulgel from mussel shells (*Corbula faba*) in inhibiting the growth of *S. aureus* and *P. aeruginosa* bacteria by observing the occurrence of inhibition zones. Chitosan was successfully extracted through demineralization, deproteinization, and deacetylation stages with a yield of 6.23%, water content of 8.2%, ash content of 0.45%, and a degree of deacetylation of 87.5%. Nanoemulgel preparations were made in three formulations of test material concentrations, namely 100 mg, 200 mg, and 300 mg. The results of physical evaluation showed that all preparations had a homogeneous, clear white gel form, were stable without phase separation, met the pH standards for topical preparations, and had good spreadability (6.7–6.9 cm) and adhesiveness (>4 seconds). Antibacterial activity testing using the disc diffusion method showed an increase in the inhibition zone with increasing concentration of the preparation. The average diameter of the inhibition zone in *S. aureus* was 13.7 mm (resistant), 20.2 mm (intermediate), and 24.5 mm (sensitive), respectively. Meanwhile, in *P. aeruginosa*, the resulting inhibition zone was 10.4 mm (resistant), 16.6 mm (intermediate), and 20.6 mm (sensitive). Two-Way ANOVA statistical analysis showed that variations in concentration and type of bacteria had a significant effect on the diameter of the inhibition zone ($p = 0.000$). The preparation of 300 mg concentration of mussel shell chitosan nanoemulgel was proven to provide the greatest inhibitory effectiveness and has the potential to be developed as a topical antibacterial pharmaceutical agent.

Keywords - Antibacterial activity, Mussel shell chitosan, Nanoemulgel, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

Abstrak. Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* menjadi tantangan global akibat meningkatnya risiko resistensi antibiotik. Kitosan adalah bahan alami yang diperoleh dari cangkang hewan laut seperti udang dan kepiting. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas nanoemulgel kitosan yang diekstraksi dari limbah cangkang kupang (*Corbula faba*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa*. Penelitian bersifat eksperimental laboratorium dengan teknik disk diffusion Kirby-Bauer untuk melihat pengaruh nanoemulgel kitosan cangkang kupang (*Corbula faba*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa* dengan mengamati terjadinya zona hambat. Kitosan berhasil diekstraksi melalui tahap demineralisasi, deproteinasi, dan deasetilasi dengan nilai rendemen sebesar 6,23%, kadar air 8,2%, kadar abu 0,45%, serta derajat deasetilasi sebesar 87,5%. Sediaan nanoemulgel dibuat dalam tiga formulasi konsentrasi bahan uji, yaitu 100 mg, 200 mg, dan 300 mg. Hasil evaluasi fisik menunjukkan seluruh sediaan memiliki bentuk gel putih bening yang homogen, stabil tanpa pemisahan fase, memenuhi standar pH sediaan topikal, serta memiliki daya sebar (6,7–6,9 cm) dan daya lekat (>4 detik) yang baik. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram memperlihatkan peningkatan zona hambat seiring bertambahnya konsentrasi sediaan. Rata-rata diameter zona hambat pada *S. aureus* berturut-turut adalah 13,7 mm (resisten), 20,2 mm (intermediet), dan 24,5 mm (sensitif). Sementara pada *P. aeruginosa*, zona hambat yang dihasilkan adalah 10,4 mm (resisten), 16,6 mm (intermediet), dan 20,6 mm (sensitif). Analisis statistik *Two-Way ANOVA* menunjukkan bahwa variasi konsentrasi dan jenis bakteri berpengaruh signifikan terhadap diameter zona hambat ($p=0,000$). Sediaan nanoemulgel kitosan cangkang kupang konsentrasi 300 mg terbukti memberikan efektivitas penghambatan terbesar dan berpotensi dikembangkan sebagai agen farmasi topikal antibakteri.

Kata Kunci – Aktivitas antibakteri, Kitosan cangkang kupang, Nanoemulgel, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

I. PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan masalah kesehatan yang cukup tinggi menurut analisis global tahun 2021, sekitar 4,71 juta orang meninggal akibat infeksi bakteri terkait resistensi antibiotik dan 1,14 juta diantaranya langsung terkena resistensi tersebut [1]. Infeksi terjadi ketika mikroorganisme penyebab penyakit seperti bakteri, virus, jamur, atau parasit menempel dan berkembangbiak didalam tubuh makhluk hidup yang lemah atau mudah terinfeksi [2]. Infeksi bakteri menjadi salah satu ancaman kesehatan global yang serius, terutama dengan pesatnya peningkatan kasus resistensi antibiotik.

World Health Organization (WHO) pada tahun 2024 memperbarui daftar 24 patogen prioritas untuk mendukung strategi pengendalian AMR (*Antimicrobial Resistance*) terutama dinegara berkembang karena dapat menimbulkan angka kematian dalam kurun waktu yang cukup singkat [3]. Infeksi luka terjadi karena mikroorganisme (umumnya bakteri) memasuki luka antaranya (operasi, traumatik, kronik seperti ulkus diabetik) dan berkembang biak sehingga menunda penyembuhan dan menimbulkan nanah atau kemerahan [4]. Tingkat resistensi bakteri terhadap antibiotik di Indonesia dan global telah mencapai kondisi yang sangat mempengaruhi efektivitas terapi klinis dan keselamatan pasien secara sistemik [5].

Bakteri penyebab infeksi terbesar yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Dua bakteri patogenik yaitu bakteri *S.aureus* dan *P.aeruginosa* yang umum ditemukan pada kulit [6]. *S.aureus* adalah bakteri Gram positif berbentuk kokus yang sering ditemukan pada kulit, hidung, dan saluran pernapasan manusia. Bakteri *P. aeruginosa* merupakan bakteri patogen oportunistik, bakteri tersebut memiliki kemampuan sebagai patogen pada saat mekanisme pertahanan inang yang diperlemah dengan memanfaatkan kerusakan pada mekanisme pertahanan inang untuk memulai suatu infeksi. Meskipun dapat hidup sebagai flora normal, bakteri ini berpotensi menjadi patogen oportunistik [7].

Penyakit infeksi yang diakibatkan oleh bakteri dapat diatasi dengan menggunakan antibiotik. Namun penggunaan antibiotik yang tidak tepat menyebabkan munculnya *S.aureus* dan *P.aeruginosa* resisten terhadap antibiotik atau bertahan hidup karena adanya perubahan genetik [8]. Bakteri *S.aureus* menunjukkan ketahanan terhadap antibiotik golongan beta-laktam seperti penisilin dan sefalosporin, sehingga pengobatan infeksi memerlukan antibiotik alternatif seperti vancomycin, linezolid, daptomycin, clindamycin, dan doksisisiklin [9]. Menurut [10] *P.aeruginosa* memiliki mekanisme resistensi yang kompleks dan membutuhkan pemberian antibiotik golongan aminoglikosida (amikasin), sefalosporin generasi ketiga (seftazidim), fluorokuinolon (siprofloksasin), tetrasilin, penisilin kombinasi (piperasilin-tazobaktam), serta karbapenem (meropenem) untuk mengatasinya [10]. Namun, meningkatnya resistensi terhadap antibiotik konvensional ini mendorong upaya penelitian zat antibakteri baru yang efektif, aman, dan bersumber dari bahan alami sebagai alternatif potensial dalam menghambat atau membunuh bakteri resisten [11].

Salah satu alternatif bahan alami yang berpotensi dikembangkan sebagai sumber antibakteri adalah kupang (*Corbula faba*). Kupang merupakan komoditas laut unggulan dari Kabupaten Sidoarjo yang banyak dibudidayakan dan dimanfaatkan dagingnya sebagai bahan makanan lontong kupang [12]. Tingginya konsumsi daging kupang juga berpotensi meningkatkan limbah cangkang kupang. Limbah cangkang kupang yang dihasilkan di Sidoarjo pada tahun 2020 mencapai 4.500 ton/tahun atau 12,3 ton/hari. Limbah cangkang kupang belum dimanfaatkan secara optimal dan hanya dibuang sebagai limbah, padahal kandungannya berpotensi besar sebagai bahan baku biopolimer seperti kitosan [13]. Kitosan adalah bahan alami yang diperoleh dari cangkang hewan laut seperti udang dan kepiting. Kitosan memiliki sifat antibakteri, antiinflamasi [14].

Menurut penelitian yang pernah dilakukan oleh [15], gel kitosan berasal dari cangkang kupang dengan konsentrasi 5.0% merupakan kelompok yang signifikan dan menunjukkan adanya peningkatan kemampuan penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba bakteri penyebab infeksi *S.aureus*. Sehingga potensi kitosan untuk dijadikan sebagai nanoemulgel antibakteri dengan pertimbangan kitosan mampu menghambat perkembangan bakteri dikarenakan kitosan memiliki kandungan enzim lisozim dan gugus amino polisakarida [16].

Nanoemulgel merupakan sistem penghantaran yang inovatif yang menggabungkan keunggulan nanoteknologi dengan sifat gel. Sistem ini memiliki kemampuan untuk meningkatkan efisiensi penyerapan bahan aktif oleh kulit. Selain itu, gel adalah bentuk sediaan topikal yang memberikan kenyamanan penggunaan, penyerapan yang cepat, dan kemampuan untuk melepaskan bahan aktif secara terkendali [17]. Nanoemulgel telah terbukti efektif dalam meningkatkan permeabilitas dan retensi bahan aktif pada kulit, sehingga cocok untuk aplikasi topikal dengan potensi aktivitas antibakteri [18].

Penelitian yang pernah dilakukan oleh [19] menunjukkan bahwa kitosan dapat mempercepat penyembuhan infeksi dengan memicu respon pada sel inflamasi, makrofag, dan fibroblas. Namun demikian, penggunaannya masih terbatas akibat kelarutannya yang rendah dalam air [20]. Belum ada penelitian yang secara khusus mengembangkan nanoemulgel dari kitosan berbasis cangkang kupang sebagai antibakteri *S.aureus* dan *P.aeruginosa*, sedangkan bahan ini tersedia berlimpah dan memiliki potensi sebagai agen farmasi topikal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui

efektivitas nanoemulgel kitosan cangkang kupang (*Corbula faba*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

II. METODE

Penelitian ini telah lulus uji etik di FKG Universitas Airlangga Surabaya dengan Nomor: 0434/HRECC.FODM/IV/2026. Jenis penelitian ini adalah penelitian yang bersifat eksperimental laboratorium dengan teknik disk diffusion Kirby-Bauer untuk melihat pengaruh nanoemulgel kitosan cangkang kupang (*Corbula faba*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa* dengan mengamati terjadinya zona hambat yang terjadi. Populasi yang digunakan adalah cangkang kupang (*Corbula faba*) yang diperoleh dari Desa Balongdowo Candi Sidoarjo. Sampel yang digunakan yaitu bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa* berasal dari Vie Laboratorium Jember.

Penelitian dilaksanakan pada bulan April-Mei dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Uji FTIR dilakukan di Universitas Negeri Surabaya. Uji PSA (*Particle size analyzer*) dilakukan di Universitas Airlangga, Uji Organoleptik, Uji Homogenitas, Uji Stabilitas, Uji Daya Lekat, Uji Daya Sebar, Uji Viskositas dilakukan di Universitas Hang Tuah Surabaya.

Penelitian ini menggunakan 5 perlakuan dengan konsentrasi nanoemulgel kitosan cangkang kupang dengan formula 100 mg, 200 mg, 300 mg yang dapat dilihat pada Tabel 1, kontrol positif (tetrasiklin) dan kontrol negatif (aquades steril). Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan digital, oven, blender, gelas kimia, stirrer, labu erlenmeyer, kaca objek, pH meter, autoklaf, spatula, gelas beaker, petridis, bunsen, kaki tiga, kasa, sprayer, batang pengaduk, gelas ukur, mikropipet, inkubator, ose bulat.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kitosan cangkang kupang, bakteri *S. aureus*, bakteri *P. aeruginosa*, paperdisk, aquades, aluminium foil, VCO (*Virgin coconut oil*), Tween 80, PEG (*Polyethylene glycol*) 400, Karbol 940, metil paraben, gliserin, HCl, NaOH, NaCl Broth, standar *Mc Farland* 0,5, Media MHA (*Mueller Hinton Agar*), Media NA (*Nutrient agar*), aquades steril, tetrasiklin. Penelitian ini diawali dengan:

A. Preparasi Sampel Dan Pembuatan Kitosan Cangkang Kupang

Sebanyak 0,803 kg limbah cangkang kupang dibersihkan, kemudian dikeringkan dan dihaluskan untuk mendapatkan ukuran sebesar 60 - 100 mesh. Proses demineralisasi menggunakan HCl 1,5 M (15:1) diaduk 200 rpm pada suhu kamar selama 2 jam. Tahap deproteinasi dilakukan dengan larutan NaOH 3% (10:1) dipanaskan pada suhu 70°C dengan pengadukan 250 rpm selama 2 jam. Deasetilasi menggunakan NaOH 50% (15:1) diaduk pada suhu 100 – 105°C selama 3 jam. Sampel kemudian dicuci hingga netral dan dikeringkan pada suhu 60°C [21].

B. Karakterisasi Kitosan

Karakterisasi kitosan meliputi rendeman, kadar air (dalam oven pada suhu 105°C), kadar abu (dalam tungku pada suhu 550 °C selama 4 jam), analisis Fourier transform infrared (FTIR) (5000–500 cm⁻¹, penentuan DD (Derajat Deasetilasi).

C. Pembuatan Nanoemulgel

Kitosan dilarutkan dengan asam asetat 1% lalu dicampur dengan VCO (*Virgin Coconut Oil*), Tween 80, dan PEG 400 diaduk 2 jam lalu diencerkan hingga volume 100 mL dengan aquades, diaduk kembali 1 jam lalu disonikasi selama 1 jam. Basis gel dibuat dengan komposisi yang terdiri dari karbopol 940 (1%), trietanolamin, metil paraben, gliserin, dan aquades. Nanoemulsi dimasukkan ke basis gel kemudian disonikasi selama 1 jam hingga terbentuk nanoemulgel [22].

Tabel 1. Formulasi nanoemulgel dengan acuan [23]

Bahan	Formula			Fungsi
	F1	F2	F3	
Kitosan cangkang kupang	100 mg	200 mg	300 mg	Antibakteri
VCO	1%	1%	1%	Fase minyak
Tween 80	8%	8%	8%	Surfaktan
PEG 400	1%	1%	1%	Ko-surfaktan
Air	ad 100%	ad 100%	ad 100%	Pelarut

D. Evaluasi Sediaan Nanoemulgel

Evaluasi dilakukan melalui uji organoleptik, pH, PSA (*Partikel Size Analyzer*), homogenitas, stabilitas visual, viskositas (Brookfield), daya lekat (beban 1 kg 5 menit), serta daya sebar (300 gr) [24].

E. Peremajaan Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang akan digunakan sebelumnya di remajakan dahulu pada media NA (*Nutrient agar*). Dilarutkan 6 gr media NA dalam aquades 200 ml lalu panaskan sampai larut dibawah api bunsen, kemudian steril menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit. Dituang media

NA ke dalam cawan petri tunggu memadat, lalu masing-masing biakan *S.aureus* dan *P.aeruginosa* diambil dengan menggunakan ose lalu tanamkan pada media inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

F. Pembuatan Suspensi Bakteri

Pengambilan koloni bakteri dari media NA menggunakan ose dan disuspensikan di dalam tabung yang berisi 7 ml larutan NaCl 0,9% steril. Kekeruhan suspensi bakteri uji dibandingkan dengan kekeruhan *Mac Farland* 0,5 dan diukur pada spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang (λ) 600 nm [25]. Nilai absorbansi 0,08-0,1 setara dengan standar *MacFarland* 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL) [26].

G. Uji Aktivitas Antibakteri Nanoemulgel Kitosan Cangkang Kupang

Suspensi bakteri ditanamkan pada media uji *Mueller Hinton Agar* (MHA) menggunakan kapas swab steril. Kemudian kertas cakram yang mengandung tiap konsentrasi nanoemulgel kitosan cangkang kupang, serta kontrol positif dan kontrol negatif diletakkan pada media uji. Tekan perlahan kertas cakram untuk memastikan kertas cakram menempel pada permukaan media MHA. Cawan kemudian ditutup menggunakan cling wrap, selanjutnya media uji diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan setelah selesai proses inkubasi dengan mengukur zona bening yang terbentuk disekitar cakram menggunakan jangka sorong. Interpretasi zona hambat dilakukan berdasarkan acuan *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) 2022 yaitu zona hambat dikategorikan resisten dengan diameter ≤ 14 mm, intermediat dengan diameter zona hambat 15-19 mm dan sensitif ≥ 20 mm [27]. Pengulangan sampel dihitung dengan rumur Federer yaitu dengan hasil 5 kali pengulangan untuk setiap konsentrasinya.

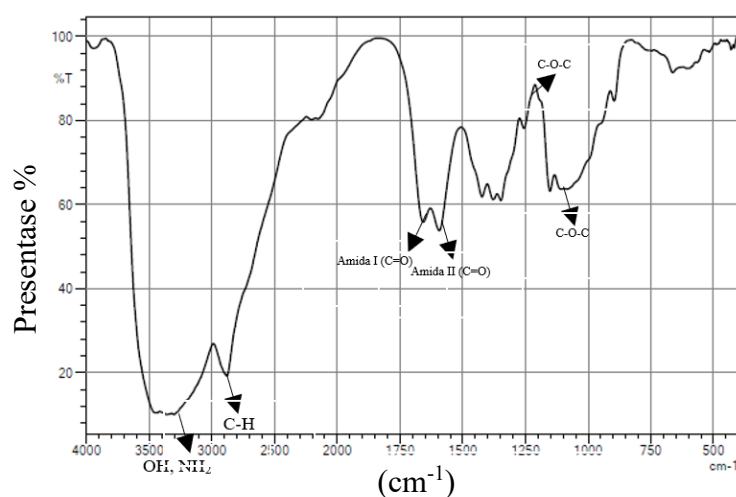
H. Analisis Data

Data hasil uji daya hambat bakteri yang diperoleh dianalisis secara parametrik menggunakan uji statistik Anova two way dengan software IBM SPSS Statistics 25.0 dengan taraf kepercayaan 95% atau $\alpha=0,05$. Uji statistik Anova two way digunakan untuk menentukan pengaruh signifikan terhadap kelompok perlakuan. Apabila nilai $p < 0,05$, maka dilakukan uji lanjut Post Hoc Duncan untuk melihat perbedaan nyata antar kelompok perlakuan.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Karakterisasi Kitosan Cangkang Kupang (*Corbula faba*)

Hasil proses ekstraksi dari cangkang kupang menghasilkan kitosan yang didapat dari proses deproteinasi, demineralisasi, dan deasetilasi dari cangkang kupang (*Corbula faba*) menghasilkan 56,21 gram dari total 803 gram cangkang kupang, sehingga diperoleh kitosan dengan kadar air 8,2%, kadar abu 0,45%, sedangkan rendeman sebesar 6,23% menunjukkan tingkat mutu kitosan yang sesuai dengan persyaratan SNI 7949:2013 [28]. Hasil penelitian menyatakan kadar air kitosan yang diperoleh pada penelitian ini yaitu 8,2% dan telah memenuhi persyaratan SNI 7949:2013 yaitu $\leq 12\%$, kadar abu yang diperoleh sebesar 0,45% hasil ini memenuhi persyaratan SNI yaitu $\leq 5\%$. Karakterisasi kitosan kemudian dievaluasi menggunakan FTIR untuk mengetahui gugus fungsi spesifik dari kitosna cangkang kupang yang dapat dilihat pada gambar 1.



(A)



(B)

Gambar 1 (A) Hasil spektrum FTIR karakterisasi kitosan cangkang kupang, Gambar 1 (B) Nanoemulgel

Hasil uji FTIR ini menunjukkan bahwa kitosan dari limbah cangkang kupang (*Corbula faba*) berhasil disintesis. Pada pita 3289 cm^{-1} menunjukkan gugus $-\text{OH}$ dan $-\text{NH}_2$ lebarnya puncak ini menandakan banyaknya interaksi ikatan

hidrogen, 2918 cm^{-1} merupakan C–H alifatik, sedangkan 1655 cm^{-1} dan 1590 cm^{-1} merepresentasikan Amida I dan II. Pita $1150\text{--}1025\text{ cm}^{-1}$ mengindikasikan struktur C–O–C polisakarida. Hasil FTIR menunjukkan struktur kimia kitosan [12].

B. Evaluasi Sediaan Nanoemulgel Kitosan Cangkang Kupang (*Corbula faba*)

Analisis nanoemulgel kitosan cangkang kupang menggunakan *particle size analyzer* (PSA) dilakukan untuk mengetahui rata-rata ukuran partikel nanoemulgel kitosan cangkang kupang yang ditunjukkan. Hasil uji *Partikel Size Analyzer* (PSA) menunjukkan bahwa sediaan nanoemulgel kitosan cangkang kupang memiliki ukuran partikel rata-rata $340,38\text{ nm}$ dengan nilai PDI (Indeks Polidispersitas) sebesar $0,3326$. Ukuran partikel berada pada rentang $20\text{--}500\text{ nm}$ sehingga termasuk dalam kategori nanopartikel. Nilai $\text{PDI} < 0,5$ menandakan bahwa distribusi ukuran partikel yang seragam dan stabil secara fisik. Pengukuran Indeks Polidispersitas dilakukan untuk mengetahui tingkat homogenitas ukuran partikel dalam sediaan [29]. Ukuran partikel yang sangat kecil memberikan luas permukaan yang lebih besar, hal ini sejalan dengan penelitian [30] menyatakan bahwa semakin kecil ukuran partikel kitosan maka semakin tinggi aktifitas antibakteri kitosan. Sehingga dapat meningkatkan absorbansi bahan aktif dan dapat mendukung efektivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* [31].

Uji organoleptik bertujuan untuk mengamati bentuk, warna dan aroma dari sediaan nanoemulgel kitosan cangkang kupang. Hasil dari pengamatan uji organoleptik menunjukkan bahwa ketiga sediaan nanoemulgel dengan formula nanoemulgel kitosan (100 mg , 200 mg dan 300 mg) memiliki bentuk gel dengan warna putih bening dengan bau khas ekstrak yang relatif seragam pada setiap formula sehingga dapat dikatakan tidak terdapat perbedaan organoleptik yang mencolok. Uji homogenitas bertujuan untuk melihat dan mengetahui tercampurnya bahan-bahan yang digunakan dalam formula sediaan, baik bahan aktif maupun bahan tambahan secara merata. Hasil dari pengujian homogenitas memperlihatkan bahwa seluruh sediaan memiliki distribusi partikel yang merata tanpa adanya gumpalan maupun butiran kasar yang menandakan sediaan telah tercampur sempurna dan stabil secara fisik [32]. Hal ini didukung oleh [33] yang mengatakan uji homogenitas ditunjukkan dengan tidak adanya butiran kasar untuk melihat tercampurnya bahan-bahan yang digunakan dalam formula gel tercampur sempurna dan merata.

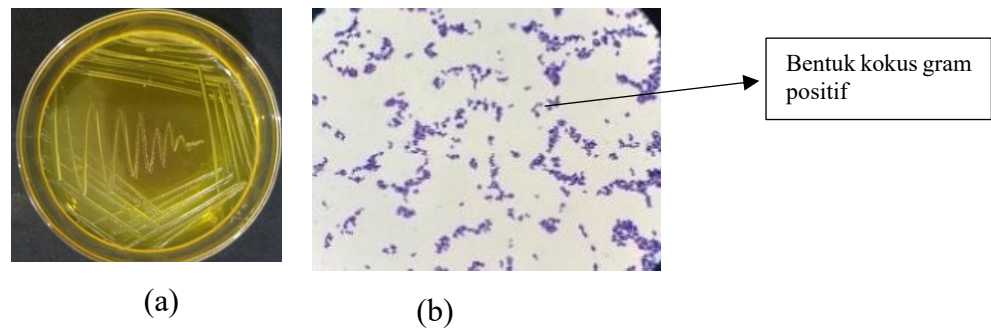
Uji pH bertujuan untuk mengetahui keamanan sediaan saat digunakan agar tidak mengiritasi kulit. Pengujian pH menunjukkan bahwa formula 100 mg memiliki pH $6,736$, formula 200 mg pH $7,270$, dan formula 300 mg pH $7,745$. Rentang nilai sesuai dengan SNI 16-3499-1996 yaitu $4,5 - 8$. Uji stabilitas juga memperlihatkan bahwa seluruh sediaan tidak mengalami pemisahan fase selama pengamatan, yang mengindikasikan kestabilan fisik nanoemulgel [34].

Uji viskositas bertujuan untuk mengetahui tingkat kekentalan dari sediaan gel. Hasil uji viskositas mengindikasikan bahwa kekentalan formulasi telah memenuhi persyaratan teknis viskositas gel topikal $4000\text{--}40.000\text{ cP}$, yaitu dengan hasil yang diperoleh 13760 cP (100 mg), 11160 cP (200 mg), dan 9700 cP (300 mg) [34]. Uji daya lekat dilakukan bertujuan untuk mengetahui kemampuan melekat gel. Hasil Uji daya lekat memperlihatkan bahwa formula 100 mg memiliki waktu lekat terlama ($10,51\text{ detik}$), sedangkan formula 300 mg memiliki waktu lekat terendah ($9,22\text{ detik}$). Meskipun terdapat penurunan, seluruh formula masih memenuhi kriteria daya lekat sediaan topikal yang baik ($>4\text{ detik}$) [24].

Sementara itu, Uji daya sebar dilakukan untuk melihat kemampuan penyebaran gel pada permukaan kulit pada saat pemakaian, uji daya sebar yang diperoleh relatif stabil, yaitu $6,9\text{ cm}$ (100 mg), $6,8\text{ cm}$ (200 mg), dan $6,7\text{ cm}$ (300 mg). Nilai ini menunjukkan kemampuan penyebaran yang sesuai dengan standar sediaan topikal ($5\text{--}7\text{ cm}$), sehingga sediaan mudah diaplikasikan dan mampu memberikan distribusi merata pada permukaan kulit [35].

C. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

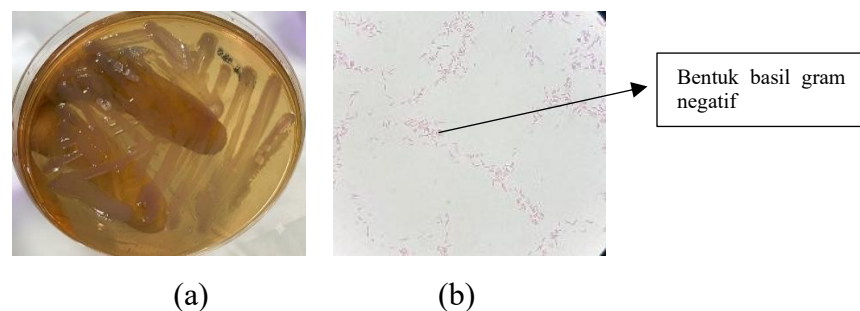
Identifikasi *Staphylococcus aureus* dilakukan melalui pewarnaan gram dan pengamatan karakteristik koloni pada media *Manitol Salt Agar* (MSA), seperti terlihat pada **Gambar 2** isolat menunjukkan koloni yang tumbuh dengan ciri-ciri bundar, halus, menonjol, berkilau dan berwarna kuning emas tua. Kemampuan memfermentasi manitol menyebabkan koloni tampak berwarna kuning (Gambar 2a). Bakteri *S.aerus* adalah bakteri yang terdapat pada kulit, saluran pencernaan dan saluran pernapasan. Bakteri *S.aureus* dapat menginfeksi jaringan atau alat tubuh lain dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda yang khas seperti peradangan. Setelah pewarnaan gram dan pengamatan mikroskopis perbesaran $100\times$, *S.aureus* menunjukkan karakteristik gram positif, berbentuk coccus berwarna ungu (Gambar 2b). Hal ini sesuai dengan penelitian [36] menunjukkan bahwa isolat memiliki ciri koloni yang mampu memfermentasi kan manitol di media MSA, sifat gram positif berbentuk coccus dan bergerombol.



Gambar 2. Hasil Karakteristik Bakteri Uji (a) Hasil penanaman bakteri *S.aureus* pada media selektif MSA (b) Hasil pewarnaan gram bakteri *S.aureus* dan pengamatan mikroskop pada perbesaran 1000x

D. Identifikasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan melalui pewarnaan gram dan pengamatan karakteristik koloni pada media *Mac conkey* seperti terlihat pada **Gambar 3** didapatkan koloni berwarna krem, berbentuk halus dengan tepi rata, berkilat, berbau khas seperti buah anggur (Gambar 3a). Bau khas yang dimiliki oleh bakteri *P.aeruginosa* diakibatkan adanya produksi 2-aminoasetofenon dari triptofan oleh sebagian besar strain dan membantu dalam mengkonfirmasi eksistensinya saat dibiakan. Bakteri *P.aeruginosa* merupakan bakteri patogen oportunistik utama pada manusia, bakteri tersebut memiliki kemampuan sebagai patogen pada saat mekanisme pertahanan inang yang diperlemah dengan memanfaatkan kerusakan pada mekanisme pertahanan inang untuk memulai suatu infeksi. Mikroorganisme ini memanfaatkan kerusakan atau gangguan pada mekanisme pertahanan tubuh untuk memulai proses infeksi. Infeksi yang ditimbulkan dapat terjadi pada berbagai organ, seperti saluran pernapasan, saluran kemih, kulit (dermatitis), jaringan lunak, sendi dan tulang, serta sistem pencernaan [31]. Sesuai dengan penelitian [37] mengemukakan bahwa bakteri *P.aeruginosa* pada umumnya berwarna krem, berkilat dan memiliki bau khas seperti anggur. *P.aeruginosa* menunjukkan karakteristik gram negatif berbentuk basil atau batang (Gambar 3b), dengan susunan soliter (tidak berkelompok) [38]. Hal ini sesuai dengan [39] menjelaskan bahwa bakteri *P.aeruginosa* berbentuk batang dan termasuk kedalam golongan gram negatif yang dapat menyebabkan infeksi bakteremia dan berbagai infeksi sistemik, terutama pada individu dengan kondisi imunokompromais seperti penderita luka bakar, saluran pernapasan, saluran kemih, kulit, jaringan lunak, sendi dan tulang.



Gambar 3. Hasil Karakteristik Bakteri Uji (a) Hasil penanaman bakteri *P.aeruginosa* pada media selektif MC (b) Hasil pewarnaan gram bakteri *P.aeruginosa* dan pengamatan mikroskop pada perbesaran 1000x

E. Uji Efektivitas Antibakteri

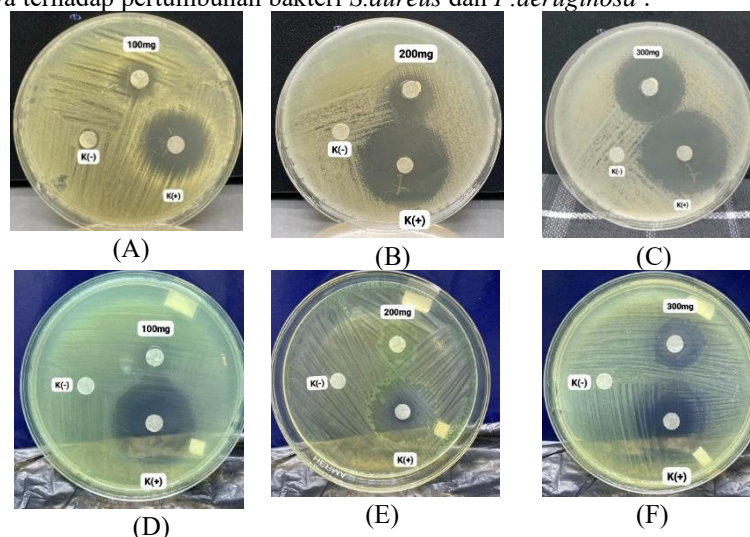
Data hasil pengujian aktivitas antibakteri nanoemulgel kitosan cangkang kupang dengan konsentrasi 100 mg, 200 mg dan 300 mg diperoleh hasil yang menunjukkan terdapatnya zona hambat terhadap bakteri *S.aureus* dan *P.aeruginosa*. Hasil dari zona hambat yang terbentuk dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Antibakteri Nanoemulgel Kitosan Cangkang Kupang

Perlakuan	<i>Staphylococcus aureus</i>	Keterangan	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Keterangan
	Rata-rata (mm)±SD		Rata-rata (mm) ±SD	
F1	13,7 ^b ±2,08	R	10,4 ^b ±1,02	R
F2	20,2 ^c ±1,19	S	16,6 ^c ±1,41	I
F3	24,5 ^d ±1,41	S	20,6 ^d ±0,99	S
Kontrol positif Tetrasiklin (+)	31,2 ^e ±1,99	S	28,6 ^e ±1,74	S
Kontrol negatif Aquades (-)	0 ^a	R	0 ^a	R

Keterangan: notasi huruf yang terletak di belakang angka merupakan hasil dari uji Duncan, jika memiliki notasi huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata dan bila notasi berbeda menunjukkan perbedaan nyata. R:Resisten, I: Intermediet, dan S: Sensitif

Hasil penelitian dilakukan analisis berupa *Two-Way Anova* untuk mengetahui pengaruh tingkat konsentrasi nanoemulgel kitosan cangkang kupang terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa*. Berdasarkan uji analisa data menggunakan uji *Anova Two Way* dengan syarat yaitu data harus terdistribusi dengan normal dan homogen sehingga sebelum dilakukan uji Anova dilakukan uji normalitas dengan uji Shapiro-Wilk dan uji homogenitas Uji *Levene*. Hasil uji normalitas data terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* didapatkan hasil signifikan secara berurutan sebagai berikut $p=0,108$ dan $p=0,056$. Dari hasil tersebut menunjukkan nilai $p>0,05$ yang artinya data berdistribusi normal. Sedangkan pada uji homogenitas pada bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa* menunjukkan nilai $p=0,584$ yang berarti data homogen atau asumsi uji homogenitas sudah terpenuhi karena nilai $\text{sig. } p>0,05$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ragam data rerata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *P.aeruginosa* memiliki varian yang sama (homogen). Data hasil uji *Two Way Anova* terhadap zona hambat bakteri *S.aureus* dan *P.aeruginosa* diperoleh nilai signifikan $p=0,000$ yang artinya ($p<0,05$) maka variasi konsentrasi dan jenis bakteri berpengaruh terhadap diameter zona hambat bakteri *S.aureus* dan *P.aeruginosa*. Data hasil *Anova two way* kemudian dilanjutkan uji ke uji post-hoc (Duncan) untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil uji Duncan menunjukkan bahwa setiap konsentrasi memiliki perbedaan nyata, pada uji Duncan kontrol positif menunjukkan perbedaan nyata karena menghasilkan aktivitas antibakteri terbesar terhadap bakteri uji dibandingkan dengan kontrol negatif dan konsentrasi lainnya. Berdasarkan hasil nanoemulgel dengan konsentrasi 300 mg memiliki daya hambat paling besar dibandingkan konsentrasi lainnya terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *P.aeruginosa*.



Gambar 4. Aktivitas Antibakteri Nanoemulgel Kitosan Cangkang Kupang Bakteri *S.aureus* (A) Konsentrasi 100mg, (B) Konsentrasi 200mg, (C) Konsentrasi 300mg & Aktivitas Antibakteri Nanoemulgel Kitosan Cangkang Kupang Bakteri *P.aeruginosa* (D) Konsentrasi 100mg, (E) Konsentrasi 200mg, (F) Konsentrasi 300mg

Tabel 2 merupakan hasil uji efektivitas nanoemulgel kitosan cangkang kupang terhadap bakteri *S.aureus* dan *P.aeruginosa* menunjukkan nanoemulgel kitosan cangkang kupang memiliki aktivitas antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *P.aeruginosa* dengan konsentrasi 100 mg, 200 mg dan 300 mg. Hal tersebut terlihat pada diameter zona hambat yang dihasilkan pada **Gambar 4**. konsentrasi 100 mg menghasilkan zona

hambat dengan rata-rata sebesar 13,7 mm termasuk dalam kategori lemah (resisten), konsentrasi 200 mg menghasilkan zona hambat dengan rata-rata sebesar 20,2 mm termasuk dalam kategori kuat (sensitif, konsentrasi 300 mg menghasilkan zona hambat dengan rata-rata 24,5 mm termasuk dalam kategori kuat (sensitif). **Gambar 4.** konsentrasi 100 mg menghasilkan zona hambat dengan rata-rata 10,4 mm termasuk dalam kategori lemah (resisten), konsentrasi 200 mg menghasilkan zona hambat dengan rata-rata sebesar 16,6 mm termasuk dalam kategori sedang (intermediate), konsentrasi 300 mg menghasilkan zona hambat dengan rata-rata sebesar 20,6 mm termasuk dalam kategori sedang (intermediate).

Hal ini sesuai dengan studi [40] bahwa pengujian aktivitas antibakteri dari kitosan semakin tinggi konsentrasi kitosan aktivitas antibakterinya juga semakin meningkat baik. Semakin bertambahnya kandungan dari nanoemulgel kitosan sehingga hambatan yang diberikan semakin kuat. Mekanisme antimikroba kitosan terhadap bakteri didasari oleh adanya gugus fungsional amina pada kitosan yang dapat membentuk ikatan dengan dinding sel bakteri dan mengakibatkan timbulnya pelepasan konstituen intraseluler sehingga bakteri akan lisis, dengan merusak dinding sel bakteri, kitosan melakukan pengikatan intraseluler, menghalangi mRNA, dan menghambat sintesis protein [30]. [41] mengemukakan bahwa tingginya konsentrasi antibakteri yang diberikan maka zat aktif yang terkandung didalamnya semakin banyak, sehingga kemampuan untuk menghambat bakteri semakin kuat dan diameter yang terbentuk semakin besar.

Hasil yang diperoleh dapat diketahui bahwa kitosan cangkang kupang efektif sebagai antibakteri dalam menghambat bakteri *S.aureus* dan *P.aeruginosa*. Komponen-komponen kimia yang terdapat pada kitosan seperti gugus fungsional amina (-NH₂) yang bermuatan positif serta memiliki pasangan elektron bebas yang dapat menarik mineral yang terdapat pada ribosom dan mineral yang ada pada dinding sel bakteri *S.aureus* dan *P.aeruginosa* membentuk ikatan kovalen koordinasi yang menyebabkan sel bakteri akan mati [42]. Kitosan memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan senyawa pada permukaan sel bakteri kemudian teradsorpsi membentuk semacam layer (lapisan) yang menghambat saluran transportasi sel sehingga sel mengalami kekurangan substansi untuk berkembang biak dan mengakibatkan matinya sel bakteri [42].

Nanoemulgel dengan konsentrasi 100 mg pada bakteri *S.aureus* dan *P.aeruginosa* masuk dalam kategori resisten hal ini dikarenakan persebaran senyawa yang ada pada kitosan kecil. Hal ini juga dapat dipengaruhi terjadi karena jumlah molekul senyawa aktif pada dosis 100 mg belum cukup pekat untuk merusak sistem pertahanan sel bakteri secara total, sehingga bakteri masih dinilai mampu bertahan terhadap paparan zat tersebut, hal ini mengindikasikan bahwa konsentrasi 100 mg belum mencapai kadar efektif minimal zat aktif untuk menghentikan kolonisasi. Pada konsentrasi 200 mg pada bakteri *P.aeruginosa* masuk dalam kategori sedang (intermediet), sedangkan pada bakteri *s.aureus* masuk pada kategori kuat (sensitif) hal ini disebabkan karena *P.aeruginosa* memiliki tingkat resistensi intrinsik yang lebih tinggi dibandingkan *s.aureus*. *S. aureus* yang merupakan bakteri Gram-positif yang tidak memiliki membran luar, sehingga senyawa aktif dalam nanoemulgel kitosan cangkang kupang dapat dengan mudah berdifusi melewati lapisan peptidoglikannya yang berpori untuk merusak membran sitoplasma. Sebaliknya, *P.aeruginosa* sebagai bakteri Gram-negatif diperkuat oleh membran luar kaya lipopolisakarida yang bertindak sebagai barrier selektif menyebabkan senyawa antibakteri yang masuk ke dalam sel berjumlah terbatas dan terus dikeluarkan kembali. Akibatnya, paparan zat aktif pada dosis 200 mg belum mampu memberikan efek inhibisi yang optimal pada *P. aeruginosa*, sehingga menghasilkan diameter zona hambat yang lebih kecil dan masuk dalam kategori sedang (intermediet) [43]. Pada konsentrasi 300 mg kedua bakteri masuk dalam kategori kuat (sensitif), konsentrasi 300 mg mampu menghambat pertumbuhan bakteri *s.aureus* dan *p.aeruginosa* ini dikarenakan tingginya kadar senyawa yang terkandung dalam nanoemulgel kitosan cangkang. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh [44] dengan hasil semakin tinggi konsentrasi, maka akan terbentuk diameter zona hambat yang besar dikarenakan adanya kandungan senyawa aktif sebagai antibakteri yang menyebabkan dinding sel pada bakteri mengalami lisis, sehingga dalam proses pembentukan dinding sel bakteri menjadi terhambat dan dapat menyebabkan sel bakteri mati.

Pada **Tabel 2** perlakuan atau formula uji terbukti lebih efektif dalam melawan bakteri *S.aureus* dibandingkan *P.aeruginosa* hal ini terlihat jelas dari diameter zona hambat (angka rata-rata) pada formula F1, F2, dan F3 yang selalu lebih besar pada *S. aureus*, menunjukkan bahwa daya bunuh zat antibakteri tersebut jauh lebih kuat terhadapnya. Selain itu, pada formula F2, bakteri *S. aureus* sudah berhasil ditaklukkan hingga masuk kategori S (Sensitif) sedangkan bakteri *P. aeruginosa* baru berada di kategori I (Intermediate) dan baru bisa menyerah (kategori S) setelah dosisnya dinaikkan ke formula F3. Hal ini terjadi karena *P.aeruginosa* tergolong bakteri Gram-negatif yang terkenal memiliki benteng atau dinding sel luar yang jauh lebih tebal dan berlapis-lapis. Struktur inilah yang membuat *P. aeruginosa* memiliki tingkat resistensi yang lebih tinggi dan lebih sulit ditembus oleh agen antimikroba dibandingkan dengan *S. aureus*. Kitosan sebagai bahan antimikroba yang mengandung lysozim dan gugus aminopolisakarida yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme seperti bakteri atau jamur. Adapun enzim lysozim mampu melisis dinding sel bakteri mengakibatkan bakteri kehilangan kemampuannya menimbulkan penyakit dalam tubuh (sel bakteri akan mati dikarenakan hilangnya sel dinding ini). Kitosan memiliki polikation bermuatan positif yang berkemampuan menekan pertumbuhan bakteri sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri [45].

Pada **Tabel 2** kontrol positif yang digunakan untuk bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa* menggunakan antibiotik tetrasiklin 250 mg yang dilarutkan dengan 5 ml aquades menunjukkan rata-rata zona hambat sebesar 31,2 mm dan 28,6 kategori kuat (sensitif). Tetrasiklin adalah antibiotik yang bersifat bakteriostatik yaitu kemampuan untuk menghambat sintesis protein mikroba dan menghambat proses pembentukan dinding sel yaitu saat proses pembentukan peptidoglikan, tetrasiklin juga banyak diyakini mengganggu permeabilitas membran organisme [46]. Penelitian [47] mengatakan bahwa tetrasiklin merupakan antibiotik spektrum luas yang aktif melawan bakteri gram positif dan gram negatif aerob maupun anaerob. Tetrasiklin sebagai agen antimikroba dikategorikan sensitif apabila memiliki zona hambat dengan diameter ≥ 15 mm, intermediet 12–14 mm, dan resistensi pada ≤ 11 mm [48]. Sedangkan untuk kontrol negatif menggunakan aquades steril dan menunjukkan tidak adanya aktivitas antibakteri. Hal ini disebabkan karena aquades tidak memiliki senyawa antimikroba dan juga aquades tidak dapat berperan sebagai antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *P.aeruginosa*. Aquades merupakan senyawa kovalen yang bersifat polar karena memiliki gugus fungsional hidroksil dengan distribusi muatan yang tidak merata, sifat polarnya yang murni tanpa adanya tambahan senyawa aktif membuat aquades tidak memiliki kandungan komponen antimikroba di dalamnya [49]. Hal ini sesuai dengan penelitian [50] penggunaan aquades sebagai kontrol negatif yaitu karena senyawa dari aquades bersifat netral yang tidak akan memberikan efek terhadap pertumbuhan bakteri atau tidak memiliki aktivitas antibakteri.

VII. Simpulan

Kesimpulan penelitian ini adalah nanoemulgel kitosan cangkang kupang (*Corbula faba*) memiliki pengaruh yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Pengujian menggunakan metode difusi cakram menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi kitosan yang diformulasikan, maka kemampuan daya hambatnya akan semakin kuat (meningkat secara linear). Konsentrasi 300 mg merupakan konsentrasi paling efektif dan berpengaruh paling signifikan terhadap pertumbuhan kedua bakteri uji. Formulasi kitosan ke dalam sediaan nanoemulgel terbukti menghasilkan karakteristik fisik yang stabil dengan rata-rata ukuran partikel sebesar 340,38 nm (masuk dalam kategori nanopartikel) dan nilai *Indeks Polidispersitas* (PDI) sebesar 0,3326 yang menandakan distribusi ukuran partikel yang homogen. Nanoemulgel kitosan cangkang kupang memiliki efektivitas antibakteri yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Terdapat pengaruh nyata dari variasi konsentrasi terhadap diameter zona hambat ($p < 0,05$), di mana formula dengan konsentrasi tertinggi (300 mg) menunjukkan aktivitas antibakteri paling optimal dan dikategorikan kuat (sensitif) pada kedua bakteri uji, dengan rata-rata diameter zona hambat masing-masing sebesar 24,5 mm pada *S. aureus* dan 20,6 mm pada *P. aeruginosa*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada kepada petugas laboratorium dan rekan kerja serta civitas akademik Prodi Teknologi Laboratorium Medis FIKES UMSIDA, Laboratorium UNESA, Laboratorium UHT dan semua pihak yang telah memberikan dukungan dalam pelaksanaan penelitian ini.

REFERENSI

- [1] M. Naghavi, "Global Burden Of Bacterial Antimicrobial Resistance 1990–2021: A Systematic Analysis With Forecasts" *Lancet*, vol. 404, no. 10459, pp. 1199–1226, Sep. 2024, doi: 10.1016/S0140-6736(24)01867-1.
- [2] S. Kesuma, M. J. Saputri, and P. Aleksandra, "Profil Bakteri Penginfeksi Pus Pada Luka Di Laboratorium Mikrobiologi Rsud Abdoel Wahab Sjahanie Periode Bulan Januari-Juni Tahun 2023," *J. Kesehat. Tambusai*, vol. 4, no. 4, pp. 6013–6023, Dec. 2023, doi: 10.31004/jkt.v4i4.20623.
- [3] *WHO Bacterial Priority Pathogens List*. 2024.
- [4] C. K. Sen, "Human Wound and Its Burden: Updated 2020 Compendium of Estimates," *Adv. Wound Care*, vol. 10, no. 5, pp. 281–292, Mar. 2021, doi: 10.1089/WOUND.2021.0026.
- [5] R. Dewi Yani *et al.*, "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Enau (*Arenga pinnata* Merr.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*," *J. Pharm. Mandala Waluya*, vol. 3, no. 6, pp. 392–408, 2024, doi: 10.54883/jpmw.v3i6.310.
- [6] L. Y. Yusan and Lestiono, *Nanopartikel Kitosan Limbah Cangkang Rajungan (Portunus pelagicus.) Terhadap Aktivitas Bakteri Pseudomonas aeruginosa pada Pasien Gangren*, 2nd ed. Scopindo Media Pustaka: Surabaya, 2024.
- [7] T. Robertus, "Mekanisme Resistensi *Pseudomonas Aeruginosa* Terhadap Antibiotik," *J. Penelit. Dan Karya Ilm. Lemb. Penelit.*, vol. 9, no 10, pp. 214–221, 2024, doi: <https://doi.org/10.25105/pdk.v9i1.18185>.
- [8] U. Umarudin and S. Surahmaida, "Isolasi, Identifikasi, Dan Uji Antibakteri Kitosan Cangkang Bekicot

- (*Achatina fulica*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dari Penderita Ulkus Diabetikum,” *Simbiosis*, vol. 8, no. 1, p. 37, 2019, doi: 10.33373/sim-bio.v8i1.1894.
- [9] K. Shao, Y. Yang, X. Gong, K. Chen, Z. Liao, and S. C. Ojha, “Staphylococcal Drug Resistance: Mechanisms, Therapies, and Nanoparticle Interventions,” *Infect. Drug Resist.*, vol. 8, no. 1, pp. 1007–1033, 2025, doi: 10.2147/IDR.S510024.
 - [10] A. Avakh, G. D. Grant, M. J. Cheesman, T. Kalkundri, and S. Hall, “The Art of War with *Pseudomonas aeruginosa*: Targeting Mex Efflux Pumps Directly to Strategically Enhance Antipseudomonal Drug Efficacy,” *Antibiotics*, vol. 12, no. 8, p. 1304, Aug. 2023, doi: 10.3390/ANTIBIOTICS12081304.
 - [11] R. Cabrera *et al.*, “Resistance Mechanisms And Molecular Epidemiology Of *Pseudomonas aeruginosa* Strains From Patients With Bronchiectasis,” *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 77, no. 23, pp. 1600–1610, 2022, doi: 10.1093/jac/dkac084.
 - [12] A. M. Sikana, N. F. Ningsih, M. R. Saputri, S. A. T. Wandani, and R. Ambarwati, “Pemanfaatan Limbah Cangkang Kupang Sebagai Sumber Kitin Dan Kitosan,” *J. Sains Mat.*, vol. 4, no. 2, pp. 50–54, 2016.
 - [13] A. M. Sikana, S. Kuntjoro, and R. Ambarwati, “Penyerapan Pb dalam Daging Kupang Putih (*Potamocorbula faba*) dengan Pemberian Kitosan dari Cangkang Kupang Putih,” *Sains Mat.*, vol. 5, no. 2, pp. 7–11, 2016.
 - [14] V. P. Santos, N. S. S. Marques, P. C. S. V. Maia, M. A. B. de Lima, L. de O. Franco, and G. M. de Campos-Takaki, “Seafood Waste as Attractive Source of Chitin and Chitosan Production and Their Applications,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 21, no. 12, Jun. 2020, doi: 10.3390/ijms21124290.
 - [15] L. Dewi, “Pemanfaatan Gel Kitosan Dari Cangkang Kupang Putih (*Corbula faba hinds*) Terhadap Kesembuhan Luka Infeksi *Staphylococcus aureus* Pada Mencit,” *Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya*, 2018.
 - [16] T. A. Sujono, U. N. W. Hidayah, and T. N. S. Sulaiman, “Efek Gel Ekstrak Herba Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban) Dengan Gelling Agent Hidroksipropil Methylcellulose Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Kulit Kelinci,” *Biomedika*, vol. 6, no. 2, pp. 9–17, 2014, doi: 10.23917/biomedika.v6i2.276.
 - [17] M. R. Donthi, S. R. Munnangi, K. V. Krishna, R. N. Saha, G. Singhvi, and S. K. Dubey, “Nanoemulgel: A Novel Nano Carrier as a Tool for Topical Drug Delivery,” *Pharmaceutics*, vol. 15, no. 1, p. 164, Jan. 2023, doi: 10.3390/Pharmaceutics15010164.
 - [18] K. Anand *et al.*, “Nano-emulgel: Emerging as a Smarter Topical Lipidic Emulsion-based Nanocarrier for Skin Healthcare Applications,” *Recent Pat. Antiinfect. Drug Discov.*, vol. 14, no. 1, pp. 16–35, Sep. 2019, doi: 10.2174/1574891X14666190717111531.
 - [19] B. Tri Hartomo and F. Griselda Firdaus, “Pemanfaatan Biomaterial Kitosan dalam Bidang Bedah Mulut,” *B-Dent J. Kedokt. Gigi Univ. Baiturrahmah*, vol. 6, no. 1, p. 63, 2019.
 - [20] M. Yadav, B. Kaushik, G. K. Rao, C. M. Srivastava, and D. Vaya, “Advances And Challenges In The Use Of Chitosan And Its Derivatives In Biomedical Fields: A Review,” *Carbohydr. Polym. Technol. Appl.*, vol. 5, no. 7, p. 100323, Jun. 2023, doi: 10.1016/j.carpta.2023.100323.
 - [21] F. W. Mahatmanti *et al.*, “Pembuatan Kitin Dan Kitosan Dari Limbah Cangkang Udang Sebagai Upaya Memanfaatkan Limbah Menjadi Material Maju,” *Inov. Kim.*, no. 1, pp. 1–38, May 2022, doi: 10.15294/IK.V1I1.60.
 - [22] M. H. Malaka, A. Indalifiany, S. Sahidin, A. Fristiohady, and R. Andriani, “Formulation And Physical Stability Test Of Nanoemulgel Containing *Petrosia Sp.* Ethanolic Extract,” *J. Farm. Sains dan Prakt.*, vol. 7, no. 3, pp. 321–331, Jan. 2022, doi: 10.31603/PHARMACY.V7I3.6080.
 - [23] A. Indalifiany, M. H. Malaka, Sahidin, A. Fristiohady, and R. Andriani, “Formulasi Dan Uji Stabilitas Fisik Nanoemulgel Formulation And Physical Stability Test Of Nanoemulgel Containing *Petrosia Sp.*,” vol. 7, no. 3, pp. 112–123, 2021.
 - [24] E. Y. Sari, C. Mutia, Z. S. Fitri, and R. A. T. N. Sakhi, “Formulasi Sediaan Nanoemulgel dari Ekstrak Resin Jernang (*Daemonorops draco* (Wild) untuk Penyembuhan Luka Bakar pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Formulation of Nanoemulgel Preparation from Jernang Resin Extract (*Daemonorops draco* (Wild)”) *J. Farm.*, vol. 7, no. 2, pp. 371–380, 2025.
 - [25] M. A. Al-Kafaween and H. A. N. Al-Jamal, “A Comparative Study Of Antibacterial And Antivirulence Activities Of Four Selected Honeys To Manuka Honey,” *Iran. J. Microbiol.*, vol. 14, no. 2, pp. 238–251, 2022, doi: 10.18502/IJM.V14I2.9193.
 - [26] Rosmania and F. Yanti, “Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri,” *J. Penelit. Sains*, vol. 22, no. 2, pp. 76–86, Jul. 2020, doi: 10.56064/JPS.V22I2.564.
 - [27] CLSI and (CLSI) L.S.I, *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 2020.
 - [28] L. P. Azhari, Y. H. Sipahutar, and S. Masengi, “Karakteristik Kimia Dan Optimalisasi Pembuatan Kitosan Dari Kulit Udang Vaname (*Penaeus vannamei*),” *Pros. Semin. Nas. Ikan XII*, pp. 369–377, 2024.
 - [29] V. Purwandari, A. Y. Sianipar, Y. C. E. Silalahi, and D. J. Nasution, “Uji Efektivitas Antibakteri Nano Gel

- Bahan Aktif Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) Terhadap *Staphylococcus aureus*,” *J. Farmanesia*, vol. 7, no. 2, pp. 37–44, 2020, doi: 10.51544/jf.v7i2.2776.
- [30] A. Komariah, “Efektivitas Antibakteri Nano Kitosan Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (In Vitro),” *Proceeding Biol. Educ. Conf.*, vol. 11, no. 1, pp. 371–377, 2014.
- [31] B. Iskandar *et al.*, “Potensi Sediaan Nanogel dari Bahan Alami dalam Regenerasi Jaringan: Strategi Baru Pengobatan Luka Bakar,” *Maj. Farmasetika*, vol. 10, no. 5, pp. 328–342, 2025, doi: doi.org/10.24198/mfarmasetika.v10i5.65853.
- [32] E. Y. Sari, C. Mutia, Z. S. Fitri, R. A. T. N. Sakhi, I. Maharini, and Elisma, “Formulation of Nanoemulgel Preparation from Jernang Resin Extract (*Daemonorops draco* (Wild.)) for Healing Burn Wounds in Male White Rats (*Rattus norvegicus*),” *J. Farm.*, vol. 7, no. 2, pp. 371–380, Apr. 2025, doi: 10.35451/JFM.V7I2.2651.
- [33] Y. A. N. Kumesan, P. V. Y. Yamlean, and H. S. Supriati, “Formulasi Dan Uji Aktivitas Gel Antijerawat Ekstrak Umbi Bakung (*Crinum asiaticum* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro,” *J. Ilm. Farm.*, vol. 2, no. 02, pp. 18–27, 2013.
- [34] T. Imanto, R. Prasetiawan, and W. E. Retno, “Formulasi dan Karakterisasi Sediaan Nanoemulgel Serbuk Lidah Buaya (*Aloe Vera* L) Formulation and Characterization of Nanoemulgel Containing Aloe,” *J. Farm. Indones.*, vol. 16, no. 1, pp. 28–37, 2019.
- [35] E. Maryanti, M. Arifin, R. Intan, P. Sari, N. Wirahmi, and D. K. Putri, “Formulasi Dan Evaluasi Sediaan Nanoemulgel Zink Oksida Dengan Variasi Konsentrasi Carbopol-940 Sebagai Gelling Agent,” *Bencoolen J. Pharm.*, vol. 5, no. 1, pp. 2808–5663, 2025.
- [36] T. Lasmini, H. H. Andreana, S. Lincy, D. Marlina, and S. Margaretta, “Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Swab Rongga Hidung Penjamah Makanan Di Jalan Durian Kota Pekanbaru,” *Pros. Asos. Institusi Pendidik. Tinggi Teknol. Lab. Med. Indones. 1*, vol. 1, no. 4, pp. 281–292, 2022.
- [37] D. Andriani, M. Saiful Amin, S. Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, and K. Kunci, “Formulasi Nanoemulgel Minyak Atsiri Palmarosa (*Cymbopogon martinii*) Dan Aktivitas Antiinflamasi,” *Cendekia J. Pharm.*, vol. 7, no. 2, pp. 150–158, 2023.
- [38] Alifah Evi Scania and Ika Ningsih, “*Pseudomonas aeruginosa*: Permasalahan, Resistensi Antibiotik dan Pemeriksaan Mikrobiologi,” *Maj. Pratista Patol.*, vol. 8, no. 3, pp. 139–140, 2023.
- [39] D. H. Rapi, “Isolation of *Pseudomonas* sp . That failed to hatch quail ’ s eggs (*coturnix-coturnix japonica*) in Garot , Darul Imarah Subdistric , Aceh Besar,” *J. Med. Vet.*, vol. 11, no. 2, pp. 88–92, 2017, doi: 10.21157/j.med.vet.v11i1.4065.
- [40] W. T. Wulandari, R. N. Alam, and A. Y. Aprillia, “Aktivitas Antibakteri Kitosan Hasil Sintesis dari Kitin Cangkang Kerang Hijau (*Perna viridis* L) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*,” *Pharm. J. Indones.*, vol. 18, no. 02, pp. 345–350, 2021.
- [41] Fauliya and L. Y. Yusan, “Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Kitosan Dari Limbah Cangkang Rajungan (*Portunus Pelagicus*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis*,” *J. Ilm. Ibnu Sina*, vol. 9, no. 2, pp. 371–379, 2024.
- [42] B. Suherman *et al.*, “Potensi Kitosan Kulit Udang Vannemei (*Litopenaeus Vannamei*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus Epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Propionibacterium agnes*, Dan *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Cakram Kertas,” *Jur. Farm. Poltekkes Kemenkes Makassar*, vol. 14, no. 1, pp. 116–127, 2018.
- [43] R. F. Langendonk, D. R. Neill, and J. L. Fothergill, “The Building Blocks of Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* : Implications for Current Resistance-Breaking Therapies,” *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, vol. 11, no. April, pp. 1–22, 2021, doi: 10.3389/fcimb.2021.665759.
- [44] M. A. Ramadhani, “Uji Aktivitas Antibakteri Berbagai Ekstrak Tanaman Herbal Terhadap *Staphylococcus epidermidis*,” *J. Res. Pharm.*, vol. 4, no. 1, pp. 65–76, 2024, doi: 10.14710/genres.v4i1.22681.
- [45] D. P. Yuniarti, “Pemanfaatan Kitosan Dari Cangkang Bekicot (*Achatina fullica*) Sebagai Pengawet Alami Pada Ikan Nila Segar,” *J. Redoks*, vol. 6, no. 2, pp. 127–138, 2021, doi: https://doi.org/10.31851/redoks.v6i2.6504.
- [46] S. A. Aulia, D. Sutningsih, H. Setyawan, and A. Udiyono, “Keberadaan Residu Tetrasiklin pada Daging Ayam Broiler di Kabupaten Kudus (Studi di Pasar Tradisional dan Pasar Modern Tahun 2019),” *J. Epidemiol. Kesehat. Komunitas*, vol. 8, no. 1, pp. 69–75, 2023, doi: doi: 10.14710/jekk.v8i1.6918.
- [47] U. F. Avisena, A. Yahya, and R. Hakim, “Aktivitas Antibakteri Kombinasi Tetrasiklin Dengan Fraksi - Fraksi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Dalam Menghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*,” *J. Community Med.*, vol. 10, no. 1, pp. 1–7, 2021.
- [48] S. W. P. Jampur, E. Tangkonda, and M. Meity, “Uji Resistensi *Campylobacter* sp Yang Diisolasi Dari Rusa Timor (*Rusa Timorensis*) Terhadap Antibiotik,” *J. Vet. Nusantara*, vol. 7, no. 13, 2024, doi: doi.org/10.35508/jvn.v7i1.11899.

- [49] N. Detami, S. Ballo, D. Indriarini, A. Lidesna, and S. Amat, "Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro," *J. Cendana Med.*, vol. 9, no. 1, pp. 85–93, 2021, doi: doi.org/10.35508/cmj.v9i1.4940.
- [50] W. Hana, P. Gerung, and I. Antasionasti, "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Botol (*Averrhoa Bilimbi L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acne* Penyebab Jerawat," *J. Pharmacon*, vol. 10, no 5, pp. 1087–1093, 2021.

Conflict of Interest Statement:

The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.