



CARAGEENAN BASED POLYELECTROLYTE FILM FOR HEALING BURNS USING SAP OF *Jatropha curcas*

Nur A. Thomas¹, Mohamad R. Zakaria^{1*}, Muhammad A. Mustapa¹, Irvan Maulana²

¹Farmasi, Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo, Gorontalo, Indonesia

²Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Jawa Barat, Indonesia

Submitted 09 June 2022; Revised 14 June 2022; Accepted 27 October 2022; Published 07 June 2024

*Corresponding author: rahmatullahzakaria@gmail.com

Abstract

Second-degree burn injuries have high mortality which occur due to accidents event. This study aims to form primary burns dressing as polyelectrolyte film as controlling release of active substances. The effectiveness of this film can be enhanced by the addition of sap from *Jatropha curcas* plant which is proven to have metabolites such as Flavonoids, Saponin, and Tannin for healing burns. Polyelectrolyte has a good ability when formed from biodegradable, biocompatible and non-toxic biopolymer such as carrageenan. Carrageenan is extracted from Red Algae (*Eucheuma spinosum*) by maceration method which combined with chitosan as co-polymer; evaluated through organoleptic test, swelling ratio test and gel fraction Test. Prospective formula was tested for the irritation for 3 x 24 hours thus the effectiveness test was performed on 5 subgroups of mice (*Mus musculus*) with treatment: JS0 (polyelectrolyte film only); JS5 (sap 5%); JS10 (sap 10%); PE/JS5 (polyelectrolyte film with sap 5%); PE/JS10 (polyelectrolyte film with sap 10%). Wound decrement was evaluated statistically by using One Way - Anova method ($\alpha = 0.05$). The results show that the formula of PE/JS10 has burn healing activity of 100% for 14 day.

Keywords: Carrageenan, *Jatropha curcas* sap, Polyelectrolyte film

FILM POLIELEKTROLIT BERBASIS KARAGENAN UNTUK LUKA BAKAR MENGGUNAKAN GETAH *Jatropha curcas*

Abstrak

Luka bakar derajat dua merupakan luka yang sering terjadi akibat kecelakaan dan memiliki nilai mortalitas yang tinggi. Pengembangan pembalut luka bakar primer seperti “film polielektrolit” dapat dilakukan untuk mengontrol pelepasan zat aktif dan menjaga kelembaban luka. Efektivitas film ini dapat ditingkatkan dengan penambahan getah dari tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) yang memiliki aktivitas dalam penyembuhan luka seperti Flavonoid, Saponin, dan Tanin. Matriks dari Film Polielektrolit memiliki kemampuan yang baik apabila dibentuk dari biopolimer yang biodegradabel, biokompatibel, dan nontoksik seperti Karagenan dan Kitosan. Karagenan diekstrak dari Alga Merah (*Eucheuma spinosum*) dengan metode maserasi. Karagenan dikombinasikan dengan Kitosan sebagai polimer penyusun film polielektrolit dievaluasi meliputi Uji Organoleptik, Uji *Ratio Swelling*, dan Uji Fraksi Gel. Formula terbaik diuji iritasi selama 3 x 24 jam, kemudian diuji efektivitas terhadap 5 kelompok hewan uji mencit dengan perlakuan berbeda yakni PE/JS0 (film polielektrolit); JS5 (getah 5%); JS10 (getah 10%); PE/JS5 (film polielektrolit dengan getah 5%); dan PE/JS10 (film polielektrolit dengan getah 10%). Dimana pengukuran penurunan dievaluasi secara statistik menggunakan metode *One Way – Anova* ($\alpha=0,05$). Hasil menunjukkan formula PE/JS10 memiliki aktivitas penyembuhan luka sebesar 100% selama 14 hari.

Kata Kunci: Karagenan, Getah *Jatropha curcas*, Film polielektrolit

1. Pendahuluan

Luka bakar merupakan luka yang terjadi akibat dari adanya gradien suhu tinggi yang terpapar pada permukaan kulit dalam durasi tertentu. Makin tinggi gradien suhu serta makin lama waktu kontak dapat mempengaruhi tingkat keparahan serta luas permukaan dari luka bakar.¹ Menderita luka bakar seringkali berdapampak hingga kematian, gangguan emosional, dan penurunan kualitas hidup.² Selama periode tahun 2018, prevalensi kejadian luka bakar di Indonesia telah terjadi sebanyak 92.635 kasus dimana rentang usia 25-34 tahun lebih rentan dengan skala proporsi cedera luka bakar sebesar 1.8/10, diikuti rentang usia 1-4 tahun dan 35-44 tahun dengan skala 1.4/103.

Film hidrogel adalah salah satu sediaan yang dapat digunakan sebagai wound dress yang dapat mempercepat penyembuhan luka dengan karakteristik dapat menyerap air sangat baik. Film polielektrolit adalah film yang strukturnya terbentuk secara spontan pada kombinasi makromolekul bermuatan negatif dan positif dalam larutan.⁴ Film hidrogel dalam bentuk polielektrolit memiliki sifat yang unik karena kemampuan basisnya untuk terionisasi yang umumnya tersusun atas dua atau lebih polimer larut air yang memiliki muatan pada unit monomernya masing-masing.⁵ Apabila polimer utamanya memiliki muatan negatif, maka dapat disebut sebagai polielektrolit anionik, sebaliknya apabila memiliki muatan positif maka disebut polielektrolit kationik.^{4,6} Kombinasi polimer karagenan dan kitosan terbukti dapat membentuk satu film polielektrolit yang baik karena interaksi silang (*crosslinked*) yang terjadi akibat muatan negatif gugus sulfat dari karagenan yang mampu mengikat gugus positif amino pada kitosan sehingga membentuk massa gel yang baik.⁷

Karagenan merupakan polimer yang biodegradabel dan biokompatibel yang tergolong poliglaktan sulfat yang mengandung 15-40% ester sulfat dengan rerata berat molekul lebih dari 100 kDa.⁸ Umumnya dapat ditemukan pada rumput laut jenis alga merah (*Eucheuma spinosum*) dengan cara diekstrak menggunakan

teknik sederhana seperti ekstraksi maserasi menggunakan air panas atau larutan alkali pada suhu tinggi, serta dapat menghasilkan rendemen karagenan murni sebesar 40-50% dari sampel rumput laut.⁹ Strukturnya terdiri dari rantai linear dari 3-linked- β -D-galactose (unit G) dan 4-linked- α -D-galactose (unit D).¹⁰ Kemampuan pembentukan gel dari karagenan bergantung pada jumlah dari gugus sulfat yang terkandung didalamnya, semakin sedikit gugus sulfat maka menyebabkan terjadinya proses fase gel diakibatkan adanya proses crosslinking yang menyebabkan gelasi yang mampu meningkatkan viskositas.¹¹

Polimer alami yang dapat ditemukan pada biota laut lainnya adalah kitosan yang terdiri atas D-glukosamin dan N-asetil-D-glukosamin yang umumnya dapat ditemukan pada cangkang kepiting, udang, maupun lobster yang melimpah di Indonesia.¹² Sifat kelarutan, degradasi, reaktivitas, dan adsorpsi nya dipengaruhi oleh jumlah protonasi gugus amino pada monomer D-glukosamin yang terasetilasi.¹³ Teknik sintesis kitosan sangat kompleks yaitu dengan melakukan derivatisasi kitin melibatkan proses penghilangan protein yang kemudian dilakukan demineralisasi untuk menghilangkan kandungan karbon dan garam lainnya sebelum dilakukan proses akhir deasetilasi kitin.¹⁴

Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) dapat mudah didapatkan di Indonesia khususnya daerah Gorontalo dimana sebagian besar masyarakat menggunakan tanaman ini sebagai tanda pembatas makam/kuburan. Terjadi pertumbuhan signifikan terhadap penanaman tanaman ini dimana sejak awal tahun 2007 sebanyak 1.128 hektar tanaman jarak pagar tumbugh di Gorontalo dengan target pemerintah setempat sebesar 10.000 hektar.¹⁵ Berdasarkan data empiris, masyarakat daerah Gorontalo sering menggunakan getah jarak pagar (bahasa gorontalo: *balacae*) dalam bentuk rebusan sebagai penyembuhan bengkak, sariawan maupun luka terbuka. Tanaman ini mengandung metabolit sekunder berupa Flavonoid, Saponin dan Tanin yang mampu memberikan efek dalam mempercepat proses penyembuhan luka.^{16,17}

2. Metode

2.1. Alat

Neraca analitik (Kern ABJ, Jerman), *Centrifuge* (*Scientific Centurion*, UK), lemari pendingin (Panasonic, Indonesia), *Blender* (Philips, Belanda), *Hot Plate* (Biosan, Latvia), Oven (*Shel Lab*, USA), cawan porselen, *thermometer* (*OneMed*, Indonesia), gelas ukur, gelas baker, cawan petri.

2.2. Bahan

Aquades, Alga merah (*Eucheuma spinosum*), Asam asetat glasial (Merck, Jerman), Asam askorbat (*Brataco chem*, Indonesia) Kalsium klorida, DMDM Hydantoin, Getah jarak pagar (*Eucheuma spinosum*), Gliserin, Asam klorida, Kitosan, PEG 4000.

2.3. Prosedur

2.3.1. Preparasi Getah Jarak Pagar

Penyadapan dilakukan dengan cara dipetik daun jarak pagar dengan melukai tangkai tanaman jarak pagar, maka jarak pagar tersebut akan mengeluarkan getah agak keputih-putihan. Setelah cairan getah jarak menetes masukkan getah dan ditambahkan dengan Asam Askorbat sebagai antioksidan.

2.3.2. Skrining Fitokimia Getah Jarak Pagar

Skrining fitokimia getah Jarak Pagar (*Eucheuma spinosum*) dilakukan dengan metode konvensional seperti berikut:¹⁸

a. Identifikasi Flavonoid

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan melarutkan getah jarak pagar dalam methanol panas (50-55°C) dan menambahkan 0,1 gram serbuk Magnesium dan 5 tetes HCl pekat.

b. Identifikasi Tanin

Identifikasi senyawa tanin dilakukan dengan melarutkan getah dalam 10 mL aquades kemudian disaring dan filtrat ditambah dengan 3 tetes FeCl₃ 1%.

c. Identifikasi Saponin

Identifikasi senyawa saponin dilakukan dengan melarutkan getah jarak pagar kedalam

10 mL air panas kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik.

2.3.3. Ekstraksi Karagenan

Karagenan di ekstraksi dengan larutan NaOH 0,9 N dengan perbandingan 1:20 (b/v) selama ±30 menit pada suhu 80-90°C. Ekstrak kental dinetralkan pHnya menggunakan larutan HCl 1 N sampai pH 7-8. Ekstrak kental karagenan di presipitasi menggunakan CaCl₂ 1.5% (b/v) dan dikeringkan menggunakan oven selama 3 x 60 menit sampai menjadi ekstrak kering berbentuk serbuk.¹⁹

2.3.4. Karakterisasi Karagenan

Dibuat larutan uji standar karagenan 0,05 gram dalam 5 ml ultrawater menjadi 10.000 ppm. Kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 10 ppm dalam 15 ml. Sampel kemudian dikarakterisasi menggunakan *Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy* yang dibandingkan dengan standar.

2.3.5. Pembuatan Kitosan yang dikembangkan

Sebanyak 2 gram kitosan di keringkan kedalam oven pada suhu 50°C selama ± 30 menit sampai berat konstan. Selanjutnya dilarutkan kedalam 100 mL larutan asam asetat 2% (v/v). Diaduk hingga larutan kuning dan membentuk massa larutan kental.²⁰

2.3.6. Optimasi Basis Film Polielektrolit

Variasi konsentrasi ekstrak kering karagenan 2%, 3%, 4% (F1, F2, F3) dilarutkan kedalam aquades pada suhu 70-80°C sambil diaduk hingga larutan homogen. Setelah itu ditambahkan dengan kitosan yang telah dikembangkan bersama dengan gliserin dan PEG 400. Campuran diaduk dengan bantuan pemanasan sampai semua bahan terlarut. Kemudian dipanaskan pada suhu 50°C sampai terbentuk massa film.²¹

2.3.7. Evaluasi Basis Film Polielektrolit

Evaluasi sifat fisik dari film hidrogel polielektrolit dilakukan dengan beberapa uji seperti berikut:²²

a. Uji Organoleptik

Dilakukan dengan mengamati dengan

saksama secara visual bentuk, warna, dan bau sediaan film polielektrolit seluruh formula uji.

b. Uji *Ratio Swelling*

Basis dengan ukuran 2 cm x 2 cm dikeringkan pada suhu 60°C ± 24 jam dan ditimbang (W_d). Selanjutnya basis yang telah kering direndam dalam aquades 100 ml pada suhu ruang selama 24 jam. Ditimbang hasil pengembangan dan dihitung rasio dengan cara:²³

$$\text{Rasio Swelling} = \frac{W_s - W_d}{W_d}$$

c. Fraksi Gel

Potongan basis dengan ukuran 2 cm x 2 cm dikeringkan pada suhu 60°C ± 24 jam dan ditimbang (W_0). F kering dibungkus dengan kain kasa dan direndam dalam aquades sampai terendam sempurna selama 24 jam. Hidrogel yang tersisa di kain kasa dikeringkan kembali dalam oven pada suhu 60°C. Ditimbang hasil pengembangan (W_1) dengan cara:²⁴

$$\% \text{Fraksi Gel} = \frac{W_1}{W_0} \times 100\%$$

d. Formulasi Basis Film Polielektrolit Getah Jarak Pagar

Formulasi film polielektrolit getah jarak pagar dilakukan dengan menyiapkan basis yang terpilih dari hasil optimasi, kemudian dimasukkan serbuk getah jarak pagar, lalu diaduk lagi hingga homogen. Kemudian ditambahkan DMDM Hydantoin ke dalam campuran lalu diaduk. Setelah itu campuran dimasukkan ke dalam cawan petri dan didiamkan pada suhu ruang. Larutan di panaskan pada suhu 50°C sampai membentuk massa film.

e. Uji Iritasi

Uji iritasi dilakukan pada punggung mencit yang sebelumnya telah dibersihkan dengan alat pencukur, kemudian sebelum perlakuan, mencit dibiarkan selama 24 jam. Kemudian sediaan film polielektrolit dengan luas 2 x 2 cm dibalut pada mencit dan dibiarkan selama 24 jam. Setelah 24 jam pembalut luka dilepaskan dan dibiarkan selama 1 jam lalu diamati. Perlakuan ini dilakukan juga pada kulit setelah 48 dan 72 jam.²⁵ Uji iritasi dihitung dengan cara menghitung indeks scoring kejadian iritasi yang terjadi akibat pemaparan sediaan pada 3 kelompok mencit selama periode uji.

f. Uji Efektivitas Film Polielektrolit Getah Jarak Pagar

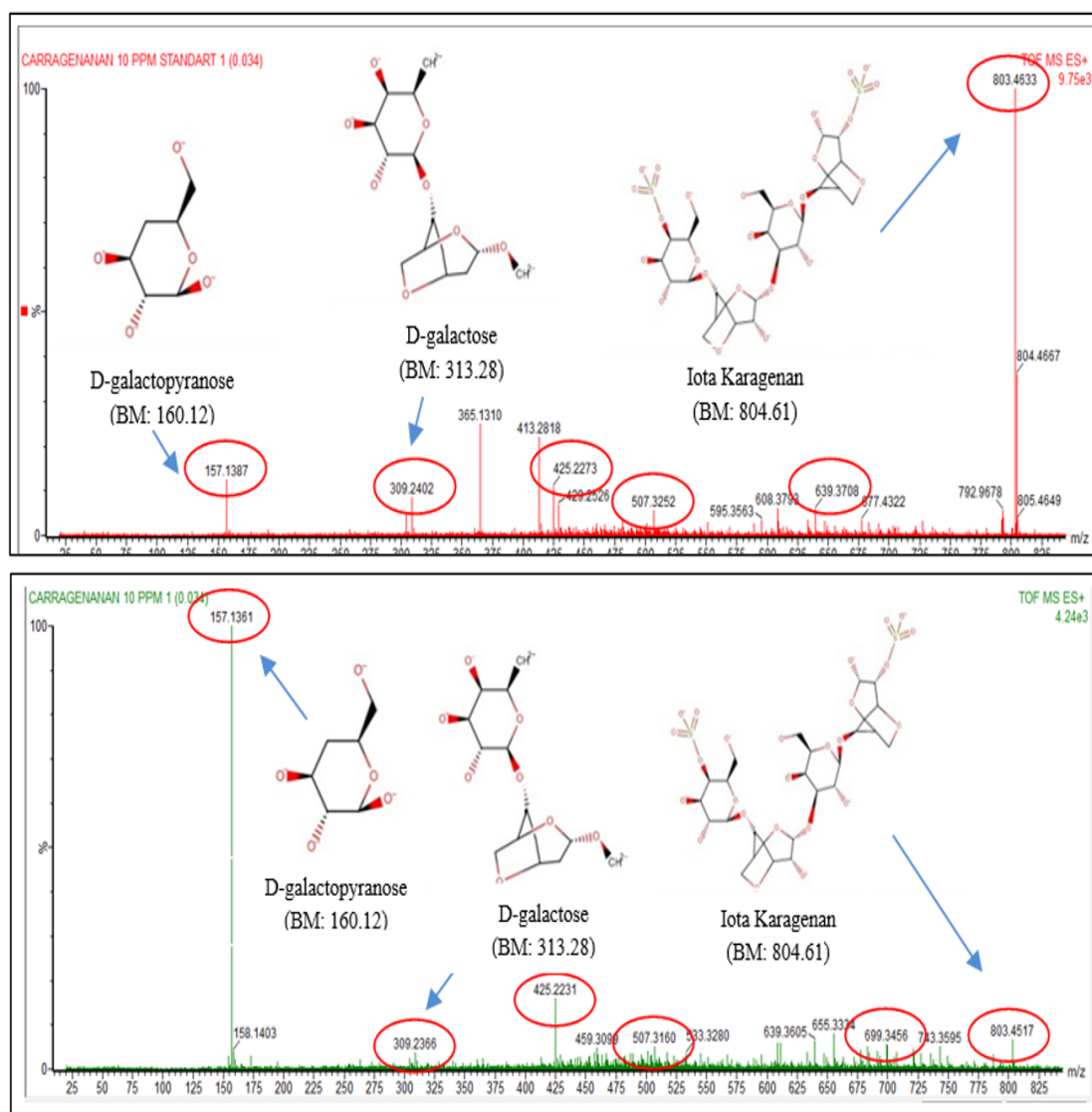
Uji efektivitas dilakukan pada 5 kelompok mencit dengan yang dipaparkan film polielektrolit getah jarak pagar dengan basis polimer karagenan. Kelompok uji dibagi kedalam 5 kategori pemaparan dengan PE/JS0 (film polielektrolit tanpa getah), JS5 (getah jarak pagar 5%), JS10 (getah jarak pagar 10%), PE/JS5 (film polielektrolit getah jarak pagar 5%), dan PE/JS10 (film polielektrolit getah jarak pagar 10%), yang kemudian diukur persentase penurunan dan penutupan luka selama waktu pengamatan yang dilakukan.²⁶ Seluruh kelompok hewan uji telah didaftarkan dan disetujui oleh Komite Etik Poltekkes Kemenkes Tasikmalaya (No Reg: 3278012P).

g. Analisis Statistik Efektivitas Film Polielektrolit Getah Jarak Pagar

Data yang diperoleh dari pengujian evaluasi dan efektivitas sediaan diuji normalitas data dengan metode Kolmogorov-Smirnov dengan null hipotesa data normal

Tabel 1. Skrining kualitatif kandungan metabolit sekunder yang berpotensi mempercepat penyembuhan luka pada getah jarak pagar (*Jatropha curcas*)

Uji Fitokimia	Pereaksi	Perubahan Visual	Interpretasi Hasil
Flavonoid	Mg + HCl	Warna menjadi merah gelap	+
Saponin	Aquades panas	Terbentuk busa selama ±15 menit	+
Tanin	FeCl ₃	Warna menjadi biru tua	+



Gambar 1. Kromatogram dan fragmentasi identifikasi Karagenan menggunakan LC-MS

($p > 0,05$). Data kemudian diuji signifikansi percepatan penyembuhan lukanya dengan *One Way Anova* dengan asumsi data *non equal variance* pada data uji.

3. Hasil

3.1. Skrining Fitokimia Getah Jarak Pagar

Tabel 1 menunjukkan hasil skrining fitokimia flavonoid yang bereaksi positif karena adanya perubahan warna dengan

reagen Mg dan HCl; reaksi akuades panas menunjukkan buih pada permukaan yang menandakan positif adanya saponin; dan reaksi tannin dengan FeCl_3 menunjukkan warna biru indikasi positif adanya metabolit tersebut.

3.2. Karakterisasi Karagenan

Hasil karakterisasi karagenan dengan menggunakan *instrument Liquid*

Tabel 2. Evaluasi fisik basis polielektrolit karagenan

Evaluasi	F1	F2	F3
Organoleptik			
Warna	Kuning	Kuning	Kuning gelap
Kejernihan	Jernih	Jernih	Keruh
Aroma	Tidak berbau	Tidak berbau	Tidak berbau
Ratio swelling	2,11	3,62	4,33
Fraksi gel	59,00%	70,20%	75,02%

Tabel 3. Hasil uji iritasi hewan uji dengan paparan film polielektrolit

Kelompok Hewan Uji	24 Jam		48 Jam		72 Jam	
	Eritema	Udema	Eritema	Udema	Eritema	Udema
PE/JS0	0	0	0	0	0	0
PE/JS5	0	0	0	0	0	0
PE/JS10	0	0	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	0	0
Indeks Iritasi Primer	0.00					
Klasifikasi	Tidak Mengiritasi					

Chromatography-Mass Spectroscopy (LC-MS) Gambar 1, didapatkan bahwa dalam kurva fragmentasi LC-MS terdapat 6 *peak* yang sama persis antara preparat ekstrak karagenan dari Alga merah (*Eucheuma spinosum*) dibandingkan dengan preparat karagenan murni PA dimana 6 *peak* muncul di daerah berat molukel terendah hingga terbesar yakni pada 157.1; 309.2; 425.2; 507.3; 639.3; dan 803.4.

3.3. Evaluasi Basis Polielektrolit Karagenan dan Kitosan

Tabel 2 menunjukkan hasil evaluasi basis polielektrolit berbasis kitosan dan karagenan dengan beberapa parameter diantaranya yaitu organoleptik, ratio swelling, dan fraksi gel. Dari hasil evaluasi diperoleh basis optimal terdapat pada formula 2 (F2) dengan visualisasi kuning bening, jernih dan tidak berbau. Memiliki ratio swelling sebesar 3.62 dan persen fraksi gel sebesar 70.2%.

3.4. Uji Iritasi Film Polielektrolit Berbasis Karagenan dengan Ekstrak Jarak Pagar

Tabel 3 menunjukkan hasil uji iritasi dari 3 formula basis terhadap kelompok mencit dimana pengukuran dilakukan setiap 24 jam

selama 3 hari yang kemudian di ukur indeks iritasi primer yang ditandai dengan adanya eritema maupun udema menggunakan metode penomoran skala Draize dan didapatkan nilai uji iritasi yaitu 0.00 yang menunjukkan tidak adanya tanda iritasi.

3.5. Uji Efektivitas Film Polielektrolit

Tabel 4 menggambarkan bahwa pada kelompok hewan uji PE/JS10 yang diberikan pemaparan dengan basis polielektrolit getah jarak pagar 10% memiliki aktivitas dalam percepatan penyembuhan luka dengan persentase sebesar 100% pada hari ke 14 (2 minggu).

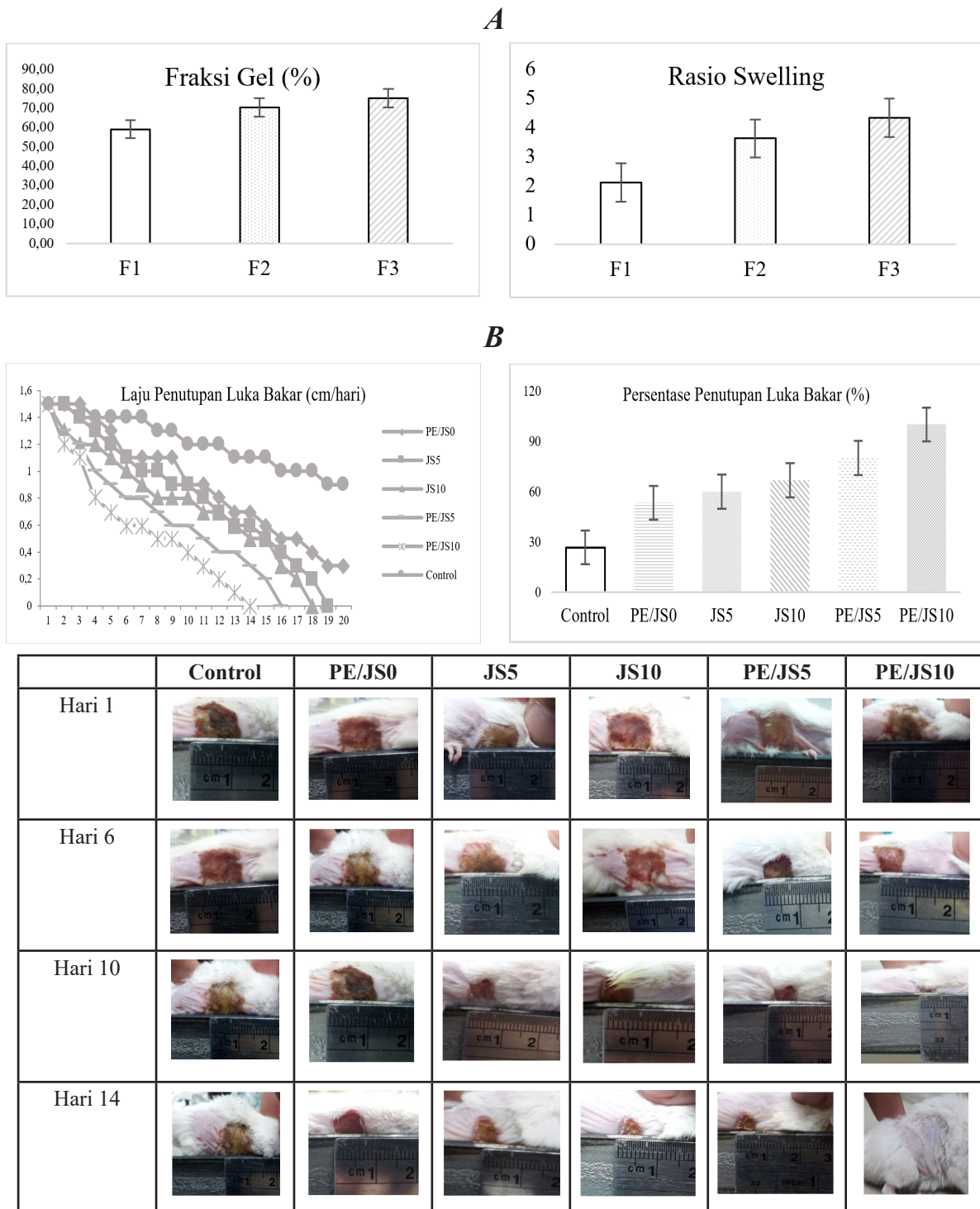
4. Pembahasan

4.1. Evaluasi Basis Film Polielektrolit Karagenan dan Kitosan

Pada Gambar 2 menunjukkan formula dengan konsentrasi karagenan tertinggi memiliki karakteristik hidrogel yang lebih baik apabila dikombinasikan dengan kitosan sebagai kopolimer karena adanya ikatan elektrostatik yang terjadi dari dua muatan berbeda dari kedua polimer mampu membentuk ikatan crosslink yang baik.⁷ Namun semakin tinggi konsentrasi karagenan

Tabel 4. Hasil uji efektivitas pada hewan uji dengan paparan film polielektrolit

Kelompok Hewan Uji	Rerata Luas Luka Bakar Hari Ke (cm)		Rerata Penurunan Luas Luka Selama 14 hari (cm)	Rerata Persentase Penyembuhan Luka Selama 14 hari (%)
	1	14		
Kontrol	1,50	1,10	0,40 ± 0,38	26,67%
PE/JS0	1,50	0,70	0,80 ± 0,46	53,33%
JS5	1,50	0,60	0,90 ± 0,44	60,00%
JS10	1,50	0,50	1,00 ± 0,46	66,67%
PE/JS5	1,50	0,30	1,20 ± 0,45	80,00%
PE/JS10	1,50	0,00	1,50 ± 0,47	100%



Gambar 2. (A) Nilai evaluasi fisik hidrogel polielektrolit karagenan dan kitosan, (B) Grafik evaluasi dan efektivitas hidrogel polielektrolit terhadap penyembuhan luka bakar

juga menunjukkan makin keruhnya pemerian dari massa hidrogel, hal ini diasumsikan karena adanya saturasi solut terhadap pembawa yang menyebabkan terjadinya peristiwa presipitasi serat yang heterogen.^{27,28} Sehingga dari hasil ini formula F2 dipilih untuk dilakukan uji efektivitas.

4.2. Evaluasi Basis Film Polielektrolit Karagenan dan Kitosan dengan Getah

Jarak Pagar

Hasil pengamatan selama 14 hari menunjukkan bahwa formula film hidrogel polielektrolit PE/JS10 mempunyai kecepatan penyembuhan luka yang lebih cepat dengan persentase penurunan luka bakar sebesar 100% selama 14 hari. Ini menunjukkan percepatan penutupan luka bakar sebesar hampir 4 kali dari kelompok uji kontrol. Hal ini disebabkan karena adanya senyawa

senyawa flavonoid, saponin, dan tannin pada getah Jarak Pagar yang dapat membantu mempercepat penyembuhan luka.¹⁶

Hasil pengamatan pada PE/JS0 (film polielektrolit tanpa getah jarak pagar) juga mampu mempercepat penyembuhan luka sebesar 2 kali lebih cepat dari kelompok kontrol. Adanya kopolimer kitosan pada pembentukan massa film polielektrolit bersama dengan karagenan dipercaya mampu membantu mempercepat penyembuhan luka karena kandungan N-asetil- β -D-glukosamin pada kitosan efektif secara ilmiah menginisiasi proliferasi fibroblas untuk memproduksi kolagen yang dapat mempercepat penutupan luka.²⁹

4.3. Analisa Statistik Film Polielektrolit dengan Getah Jarak Pagar

Hasil di uji statistik dengan metode *One Way - Anova* yang menunjukkan signifikansi pada kelompok uji dengan pemaparan PE/JS10 adalah formula yang efektif yang ditandai dengan persentase penurunan/penyembuhan luas luka sebesar 100% pada hari ke 14 dengan nilai $P = 0,008$ ($P < 0,05$).

5. Kesimpulan

Percepatan penyembuhan luka dengan menggunakan sediaan film polielektrolit dengan bahan aktif getah jarak pagar (*Jatropha curcas*) meunjukkan bahwa kombinasi karagenan dan kitosan memiliki nilai rasio *swelling* sampai 4,33 dan fraksi gel sebesar 75%. Kemampuan mempercepat penyembuhan luka dengan PE/JS10 mampu memberikan persentase penurunan luka sebesar 100% selama 14 hari ($p < 0,05$).

Referensi

1. Johnson C. Management of burns. *Journal of the International Society for Burn Injuries*. 2018;36:435-440.
2. Smolle C, Cambiaso-Daniel J, Forbes AA, Wurzer P, Hundeshagen G, Branski L, Huss F et al. Recent trends in burn epidemiology worldwide: A systematic review. *Journal of the International Society for Burn Injuries*. 2016;5032:1-9.
3. Kementrian Kesehatan RI. Laporan Nasional Riskesdas. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2018:259-260.
4. Folchman-Wagner Z, Zaro J, Shen W. Characterization of Polyelectrolyte Complex Formation Between Anionic and Cationic Poly(amino acids) and Their Potential Application pH-Dependent Drug Delivery. *Molecules*. 2017;22:1089.
5. Wang Y. Soft Polyelectrolyte Hydrogel as Versatile Material in Different Application (thesis). Ohio: Case Western Reserve University; 2016.
6. Shamsudeen R, Jayakumari V, Rajeswari R, Mukundan T. Polyelectrolyte hydrogels of chitosan and polyacrylamide: A comparison of electroactive characteristics. *Indian Journal of Engineering & Materials Sciences*. 2012;19:331-337.
7. Li C, Hein S, Wang K. Chitosan-Carageenan Polyelectrolyte Complex for the Delivery of Protein Drugs. *ISRN Biomaterials*. 2013;ID 629807.
8. Necas J, Bartosikova L. Carageenan: a review. *Veterinari Medicina* 2013;58(4):187-205.
9. Siregar R, Santoso J, Uju. Karakteristik Fisiko Kimia Kappa Karaginan Hasil Degradasi Menggunakan Hidrogen Peroksida. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 2016;19(3).
10. Sun Y, Yang B, Wu Y, Liu Y, Gu X, Zhang H, et al. Structural characterization and antioxidant activities of κ -carrageenan oligosaccharides degraded by different methods. *Food Chemistry*. 2015;178:311-318.
11. Campo V, Kawano D, Junior S, Carvalho I. Carrageenans: Biological Properties, Chemical Modifications and Structural Analysis. *Carbohydrate Polymers*. 2009;77:(167-180).
12. Kusuma H, Al-Sa'bani A, Darmokoesoemo H. N2O-Carboxymethyl Chitosan: An Innovation in New Natural Preservative from Shrimp Shell Waste with a Nutritional Value and Health Orientation. *Procedia Food Science*. 2015;35-31

13. de Alvarenga E. Characterization and Properties of Chitosan. *Biotechnology of Biopolymers*. 2010;(80):1155-1160.
14. Puvvada Y, Vankayalapati S, Sukhavasi S. Extraction of chitin from chitosan from exoskeleton of shrimp for application in the pharmaceutical industry. *Int Current Pharmaceutical Journal*. 2012;1(9):258-263.
15. Tahir M. Konferensi Nasional Pemanfaatan Hasil Samping Industri Biodiesel dari Industri Etanol; 2007 Maret 13; Jakarta, Indonesia. Indonesia: Universitas Negeri Gorontalo: 2007.
16. Susilowati A. Pengaruh Getah Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) Terhadap Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro (thesis). Makassar: Universitas Hasanudin; 2014.
17. Kesumasari N, Napitupulu M, Jura M. Analisis Kadar Flavonoid pada Batang Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.), Jarak Merah (*Jatropha gossypifolia* L.), dan Jarak Kepyar (*Ricinus communis* L.) Pengembangan Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn) Sebagai Sumber Bio-Energi di Provinsi Gorontalo. *Jurnal Akademika Kimia*. 2018;7(1):28-31
18. Setyowati W, Ariani S, Ashadi, Mulyani B, Rahmawati C. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibhetinys* Murr.) Varietas Petruk. Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI; 2014 Juni 21; Surakarta, Indonesia. Indonesia: Universitas Negeri Surakarta; 2014.
19. Distantina S, Fadilah, Rochmadi, Fahrurrozi M, Wiratni. Proses Ekstraksi Karagenan dari *Eucheuma cottonii*. Seminar Rekayasa Kimia dan Proses. 2010 Agustus 4-5; Semarang, Indonesia. Indonesia: Universitas Sebelas Maret: 2010.
20. Silva P, Guedes D, Pecora J, Cruz-Filho A. Time-Dependent Effects of Chitosan on Dentin Structures. *Dent J*. 2012;23(4):357-361.
21. Sanchez MP, Martin-Illana A, Ruiz-Caro R, Bermejo P, Abad MJ, Carro R, et al. Chitosan and Kappa-Carrageenan Vaginal Acyclovir Formulations for Prevention of Genital Herpes. In Vitro and Ex Vivo Evaluation. *Marine Drugs*. 2015;13:5976-5992.
22. Tapia C, Escobar Z, Costa E, Sapag-Hagar J, Valenzuela F, Basualto C. et al. Comparative studies on polyelectrolyte complexes and mixtures of chitosan-alginate and chitosan-carrageenan as prolonged diltiazem clorhydrate release systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2004;57:65-75.
23. Rumyanstev A, Pan A, Roy S, De P, Yu E, Kramarenko. Polyelectrolyte Gel Swelling and Conductivity vs Counterion Type, Cross-Linking Density, and Solvent Polarity. *Macromolecules*. 2016;(49):6630-6643.
24. Alcantara, Silva M, Varca, Costa G, Amaral, Hage R, et al. Synthesis and Characterization of Hydrogels Composed by Different Types of Poly(vinyl alcohol). The 6th Latin American Congress of Artificial Organs and Biomaterials. Brasil: Instituto de Pesquisas Energeticas e Nucleares IPEN-CNEN/SP: 2012.
25. de Nobrega A, Alves E, Presgrave R, Costa N, Delgado I. Determination of eye Irritation Potential of Low-irritant Products: Comparison of in vitro Results with the in vivo Draize Rabbit Test. *Int J Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2012;(55):381-388.
26. Akhoondinasab M, Akhoondinasab M, Saberi M. Comparison of Healing Effect of Aloe Vera Extract and Silver Sulfadiazine in Burn Injuries in Experimental Rat Model. *WJPS*. 2014;5(1).
27. Al-Zebari N. Production and Characterisation of Self-Crosslinked Chitosan-Carrageenan Polyelectrolyte Complexes (dissertation). Cambridge: University of Cambridge; 2017.
28. Al-Zebari N, Best S, Cameron R. Effects of reaction pH on self-crosslinked chitosan-carrageenan polyelectrolyte complex gels and sponges. *Jphys Materials*. 2019;015003.
29. Singh R, Shitiz K, Singh A. Chitin

and chitosan: biopolymers for wound management. Int Wound Journal. 2017; 14, 1276-1289.