PJDRS

Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students

Journal homepage: https://jurnal.unpad.ac.id/pjdrs

p-ISSN: 2656-9868 e-ISSN: 2656-985X

Laporan Penelitian

Uji aktivitas antibakteri ekstrak kitosan cangkang kepiting bakau terhadap pertumbuhan bakteri *prevotella intermedia* : Studi eksperimental

Gabrina Yulivia[1], Sinar Yani[2], Cicih Bhakti Purnamasari[2], Alhawaris[3], Masyhudi[4]

*Korespondensi:
gabrinayulivia@gmail.com

[1]Program Studi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia
[2]Departemen Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia
[3]Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia
[4]Departemen Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

Submisi: 29 Agustus 2026
Revisi: 20 September 2026
Penerimaan: 27 Oktober 2026
Publikasi Online: 31 Oktober 2026
DOI: 10.24198/pjdrs.v10i3.70463

ABSTRAK

Pendahuluan: *Prevotella intermedia* merupakan bakteri Gram negatif anaerob yang berperan dalam penyakit periodontal. Kitosan dari cangkang kepiting bakau (*Scylla serrata*) berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan menganalilsis aktivitas antibakteri kitosan dari cangkang kepiting bakau terhadap *P. intermedia* serta menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). **Metode:** Penelitian eksperimental laboratoris dengan desain *post-test only control group* menggunakan *P. intermedia* ATCC 25611. Kitosan diperoleh melalui deproteinasi menggunakan NaOH 3,5%, demineralisasi dengan HCl 1 M, depigmentasi menggunakan aseton dan NaClO 0,5%, serta deasetilasi dengan NaOH 60%. Ekstrak dilarutkan dalam asam asetat 1% dan diuji pada konsentrasi 40%, 20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, dan 0,625%. Bakteri dikultur pada Blood Agar dan di inkubasi anaerob pada 37°C selama 24 jam. KHM ditentukan dengan metode mikrodilusi menggunakan *microplate* 96-*well* dan MTT. Kekeruhan suspensi bakteri distandarkan menggunakan spektrofotometer pada 600 nm. Karakterisasi kitosan dilakukan menggunakan FTIR pada rentang bilangan gelombang 4000–400 cm^{-1}. *Chlorhexidine gluconate* 0,2% digunakan sebagai kontrol positif dan asam asetat 1% sebagai kontrol negatif. KBM ditentukan melalui subkultur pada Blood Agar dan inkubasi anaerob 37°C selama 48 jam. **Hasil:** FTIR mengonfirmasi karakteristik gugus fungsi kitosan, meliputi N–H/O–H, C–H, amida I/II, C–N, dan C–O–C, dengan derajat deasetilasi 79,57%. Aktivitas antibakteri ditunjukkan pada konsentrasi 40%–2,5%, sedangkan 1,25% dan 0,625% menunjukkan pertumbuhan bakteri. KHM ditetapkan 2,5%. Tidak ditemukan koloni pada 40% dan 20%, sehingga KBM sebesar 20%. Kontrol positif menunjukkan hambatan pertumbuhan, sedangkan kontrol negatif digunakan untuk memastikan pelarut tidak memberikan efek antibakteri. **Simpulan:** Kitosan dari cangkang kepiting bakau memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. intermedia* dengan KHM 2,5% dan KBM 20%.

KATA KUNCI: Aktivitas antibakteri, kitosan, *prevotella intermedia*, *scylla serrata*, penyakit periodontal

Antibacterial activity test of chitosan from mangrove crab (scylla serrata) shells against the growth of prevotella intermedia: Study experimental

ABSTRACT

Introduction: *Prevotella intermedia is an anaerobic Gram-negative bacterium associated with periodontal disease. Chitosan from mangrove crab (Scylla serrata) shells has potential antibacterial activity. This study aimed to evaluate its activity against P. intermedia and determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC).* ***Methods:*** *This laboratory experimental study used a post-test only control group design with P. intermedia ATCC 25611. Chitosan was obtained through deproteinization using 3.5% NaOH, demineralization with 1 M HCl, depigmentation using acetone and 0.5% NaClO, and deacetylation with 60% NaOH. The chitosan was dissolved in 1% acetic acid and tested at concentrations of 40%, 20%, 10%, 5%, 2.5%, 1.25%, and 0.625%. Bacteria were cultured on blood agar and incubated anaerobically at 37°C for 24 hours. MIC was determined by microdilution in a 96-well microplate using MTT. Bacterial suspension turbidity was standardized by spectrophotometry at 600 nm. Chitosan characterization was performed using Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) at 4000–400 cm^{-1}. Chlorhexidine gluconate (0.2%) was used as the positive control and 1% acetic acid as the negative control. MBC was determined by subculturing onto blood agar, followed by anaerobic incubation at 37°C for 48 hours.* ***Results:*** *FTIR analysis identified N–H/O–H, C–H, amide I/II, C–N, and C–O–C functional groups, with a degree of deacetylation of 79.57%. Antibacterial activity was observed at concentrations of 2.5% to 40%, whereas bacterial growth was observed at concentrations of 1.25% and 0.625%. The MIC was 2.5%. No colonies were observed at concentrations of 40% and 20%, establishing an MBC of 20%. The positive control inhibited growth, while the negative control assessed the solvent's antibacterial effect.* ***Conclusions:*** *Chitosan from mangrove crab shells showed antibacterial activity against P. intermedia with an MIC of 2.5% and an MBC of 20%.*

KEYWORDS: *Antibacterial activity, chitosan, prevotella intermedia, scylla serrata, periodontal disease*

Sitasi: Yulivia G, Yani S, Purnamasari CB, Alhawaris, Masyhudi. Uji aktivitas antibakteri ekstrak kitosan cangkang kepiting bakau terhadap pertumbuhan bakteri *Prevotella intermedia*: Studi Eksperimental. Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students. 2026;10(3):372-382. DOI: 10.24198/pjdrs.v10i3.70463. Submitted to Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY-NC 4.0) license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal merupakan masalah kesehatan global yang serius, ditandai sebagai kondisi peradangan kronis yang terjadi akibat ketidakseimbangan antara populasi mikroorganisme patogen pada jaringan periodontal dengan respons inflamasi jaringan. Kondisi patologis ini secara progresif menyebabkan kerusakan pada jaringan keras dan lunak penyangga gigi, yang pada akhirnya dapat berisiko menyebabkan kegoyangan hingga kehilangan gigi.[1-3] Data RISKESDAS pada tahun 2018 menunjukkan bahwa prevelensi periodontitis di Indonesia masih sangat tinggi, yaitu mencapai 74,1%.[4]

Salah satu mikroorganisme patogen utama yang menjadi faktor penyebab penyakit periodontal adalah bakteri Gram negatif, anaerobik, yaitu *Prevotella intermedia*.[5-6] Bakteri ini termasuk dalam koloni sekunder yang awalnya tidak berkoloni pada permukaan gigi yang sehat, melainkan melekat pada bakteri yang terdapat dalam massa plak serta memiliki komponen virulensi yang berlimpah.[7-8] Bakteri ini secara signifikan terkait dengan kasus periodontitis, dimana data menunjukkan bahwa lebih dari 85% pasien periodontitis tahap I dan II positif mengandung bakteri *Prevotella intermedia*.[9]

Upaya penanganan penyakit periodontal seringkali melibatkan terapi tambahan menggunakan antibiotik oral seperti metronidazole dan amoksisilin. Namun, penggunaan antibiotik konvensional kini menghadapi tantangan serius berupa peningkatan resistensi antimikroba oleh *Prevotella intermedia*.[10] Oleh karena itu, diperlukan kebaruan dalam menemukan agen antibakteri yang efektif, aman dan berkelanjutan untuk mengatasi infeksi *Prevotella intermedia* serta meminimalisir risiko resistensi.

Pencarian solusi alternatif yang efektif dan berkelanjutan mengarah pada pemanfaatan zat aktif antibakteri dari bahan alam, terutama yang berasal dari sumber daya alam di Indonesia yang melimpah, khususnya di wilayah perairan. Salah satu komoditas perikanan bernilai ekonomis tinggi yang banyak terdapat di perairan pesisir, termasuk Kalimantan Timur, adalah *Scylla serrata*.[11-12]

Meskipun memiliki nilai ekonomis yang tinggi, sekitar 80% dari berat kepiting setelah dikonsumsi menjadi limbah cangkang yang tidak dimanfaatkan. Limbah cangkang dalam jumlah besar ini berpotensi mencemari lingkungan dan merusak stabilitas ekosistem jika tidak dikelola dengan baik.[13] Kondisi tersebut mendorong pemanfaatan limbah cangkang kepiting menjadi suatu terobosan inovatif, mengingat cangkang ini kaya akan senyawa kitin yang dapat diolah lebih lanjut menjadi kitosan.[14]

Kitosan merupakan senyawa turunan kitin yang didapatkan melalui proses deasetilasi, secara parsial maupun total dengan menghilangkan gugus asetil dalam rantai molekul kitin agar dapat terbentuk gugus amino dalam kitosan.[15] Keunggulan kitosan terletak pada sifatnya yang biokompatibel, biodegradable dan polikationik. Sifat polikationik ini berasal dari gugus amina (NH_2) bebas, yang memungkinkan kitosan untuk berinteraksi secara elektrostatik dengan dinding sel bakteri, baik bakteri Gram positif maupun Gram negatif, sehingga mengganggu integritas membrane sel dan menyebabkan kebocoran komponen intraseluler yang berujung pada kematian sel.[14,16,17,18]

Penelitian-penelitian sebelumnya telah menunjukkan potensi kitosan sebagai antibakteri dari berbagai sumber krustasea, seperti kitosan dari cangkang kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) yang mampu menghambat pembentukan biofilm *Porphyromonas gingivalis* serta menunjukkan efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.[19,20] Selain itu, ekstrak kitosan dari cangkang *Scylla serrata* sendiri telah diteliti dan terbukti efektif sebagai antijamur.[14]

Meskipun potensi antibakteri kitosan dari krustasea telah diakui secara luas dan kitosan dari cangkang *Scylla serrata* telah diteliti sebagai antijamur, kebaruan penelitian ini terletak pada fakta bahwa belum ada penelitian serupa yang secara spesifik menguji aktivitas antibakteri ekstrak kitosan cangkang *Scylla serrata* terhadap pertumbuhan bakteri *Prevotella intermedia*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak kitosan cangkang *Scylla serrata* terhadap pertumbuhan bakteri *Prevotella intermedia*. Secara spesifik, Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antibakteri kitosan terhadap *P. intermedia* serta menentukan KHM dan KBM.

METODE

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratoris dengan pendekatan *posttest only control group design*. Penelitian ini berlangsung dari bulan Oktober hingga April 2026 yang bertempat di empat lokasi berbeda. Determinasi kepiting bakau dilakukan di Laboratorium Hidro-Oseanografi, Universitas Mulawarman. Proses ekstraksi kitosan cangkang kepiting bakau dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik, Universitas Mulawarman. Ekstrak kitosan yang dihasilkan dilakukan uji FTIR (*Fourier Transform Infrared*) di *Integrated Laboratory*, Universitas Mulawarman. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kitosan cangkang kepiting bakau dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Provinsi Kalimantan Timur.

Penelitian ini menggunakan 2 kelompok yang berbeda. Kelompok I merupakan kelompok uji yang terdiri dari 7 perlakuan pada bakteri *Prevotella intermedia* yang diberi ekstrak kitosan cangkang *Scylla serrata* dengan konsentrasi 40%, 20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25% dan 0,625%. Kelompok II merupakan kelompok kontrol yang terdiri dari kontrol positif menggunakan *chlorhexidine gluconate* 0,2% dan kontrol negatif menggunakan asam asetat (CH_3COOH) 1%. Penelitian ini dilakukan dengan tiga kali pengulangan, sehingga secara keseluruhan terdapat 27 unit percobaan yang diamati, terbagi menjadi 9 kelompok perlakuan dengan 3 kali pengulangan untuk setiap kelompok.

Populasi dalam penelitian ini adalah *Scylla serrata* sebagai hewan uji yang diperoleh dari pengepul kepiting bakau di Jl. Kapitan, RT. 16, Muara Badak Ilir dan bakteri *Prevotella intermedia* dengan standar ATCC 25611 sebagai subjek bakteri uji. Bagian *Scylla serrata* yang digunakan adalah cangkang. Cangkang kepiting bakau yang sudah dicuci bersih menggunakan air dikeringkan secara alami di bawah paparan sinar matahari langsung kurang lebih selama 7 hari. Setelah kering, cangkang ditumbuk menggunakan lumping dan alu kemudian di blender sampai menjadi serbuk dan diayak menggunakan ayakan 100 *mesh*.

Pembuatan ekstrak kitosan cangkang kepiting bakau dilakukan dengan tahapan deproteinasi, demineralisasi, depigmentasi dan deasetilasi.[14] Tahapan deproteinasi dilakukan pada suhu ±65℃ menggunakan larutan NaOH 3,5% dengan perbandingan 1:10 (gram serbuk/mL NaOH) selama 2 jam.[21] Tahapan demineralisasi dilakukan pada suhu ruang menggunakan larutan HCl 1 M dengan perbandingan 1:10 (gram serbuk/mL HCl) selama 3 jam.[14] Tahapan depigmentasi dilakukan pada suhu kamar menggunakan aseton selama 1 jam dilanjutkan dengan larutan NaClO 0,5% selama 1 jam.[22] Tahapan deasetilasi dilakukan pada suhu ±100°C menggunakan larutan NaOH 60% dengan perbandingan 1:20 (serbuk/mL NaOH) selama 4 jam.[21] Selanjutnya, ekstrak kitosan cangkang *Scylla serrata* yang dihasilkan diencerkan dengan pelarut asam asetat (CH_3COOH) 1% untuk mendapatkan konsentrasi yang diperlukan yaitu 40%, 20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, dan 0,625%.

Bakteri *Prevotella intermedia* dibiakkan pada media *Blood Agar* dan diinkubasi dalam *anaerobic jar* selama 24 jam pada suhu 37℃. Setelah inkubasi, bakteri disuspensikan ke dalam tabung berisi *Brain Heart Infusion Broth (*BHI-B). Suspensi bakteri kemudian dihomogenkan menggunakan vortex dan diukur tingkat kekeruhannya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm hingga didapatkan tingkat kekerusahan 1 McFarland dengan nilai absorbansi 0,26 atau 0,5 McFarland dengan nilai absorbansi 0,13.

KHM diuji menggunakan metode mikrodilusi pada *microplate* 96 *well*. *Microplate* steril disiapkan, kemudian 75 µL BHIB 1 McFarland dimasukkan ke dalam sumur 1A-1C. Selanjutnya, 75 µL BHIB 0,5 McFarland ditambahkan pada sumuran 2A-2C hingga 7A-7C. Daerah 1A-1C akan dimasukkan larutan stok ekstrak kitosan cangkang kepiting bakau dengan konsentrasi 80% sebanyak 75 µL. Lalu dilakukan serial dilusi ke sumuran 2A–2C hingga 7A–7C. Pada setiap sumuran akan menampung total volume 75 µL, sehingga pada sumuran 7A–7C dilakukan pembuangan volume sebanyak 75 µL untuk menyetarakan volumenya.

Selanjutnya, dilakukan pengujian kontrol negatif dan positif. Kedua kontrol dilakukan dengan perlakuan yang sama. Pertama, pada sumuran 11A–11C hingga 12A–12C dimasukkan 75 µL BHIB 1 McFarland. Lalu, pada sumuran 11A 11C dimasukkan *Chlorhexidine digluconate* 0,2% sebagai kontrol positif sebanyak 75 µL tiap sumuran dan

pada sumuran 12A–12C dimasukkan asam asetat 1% yang merupakan kontrol negatif sebanyak 75 µL tiap sumuran. Volume akhir setiap sumur adalah 75 µL dan pengujian ekstrak dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

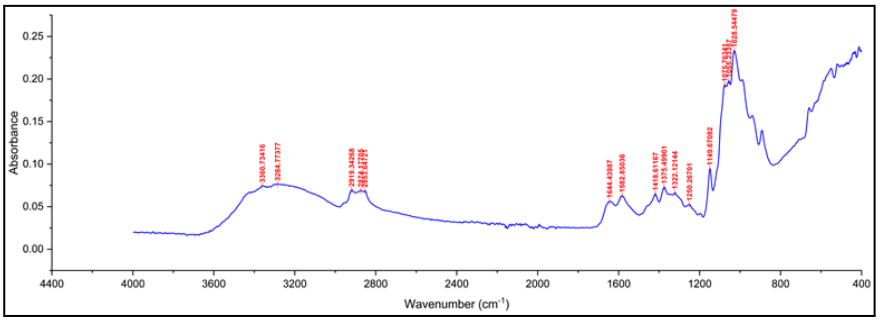
Setelah pengisian microplate selesai, selanjutnya dilakukan inkubasi dalam anaerobic jar selama 24 jam pada suhu 37℃. Setelah inkubasi, KHM ditentukan secara visual menggunakan pewarna MTT, di mana hambatan pertumbuhan ditandai dengan larutan tetap berwarna kuning/biru-ungu muda, sedangkan adanya pertumbuhan dikonfirmasi oleh perubahan warna yang jelas menjadi ungu.[23]

Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan mengambil sampel dari semua sumuran larutan uji yang menunjukkan inhibisi pertumbuhan (tidak ada kekeruhan) dari pengujian KHM sebelumnya. Sampel larutan uji disubkultur menggunakan ose steril ke media *Blood Agar* dan diinkubasi secara anaerob pada suhu 37℃ selama 48 jam.

Nilai KBM ditentukan pada konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri hingga tidak teramati pertumbuhan koloni bakteri pada *Blood Agar*. Selanjutnya, data yang dihasilkan akan dianalisis secara kualitatif dengan mengamati nilai KHM dan KBM ekstrak kitosan cangkang *Scylla serrata* terhadap bakteri *Prevotella intermedia* ATCC 25611.

HASIL

Analisis menggunakan instrumen spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FTIR) diimplementasikan guna menentukan keberadaan gugus-gugus fungsi pada kitosan yang telah disintesis. Pemindaian spektrum dilakukan pada interval bilangan gelombang 4000–400 cm-1. Rangkuman dari hasil interpretasi puncak-puncak serapan FTIR tersebut dipaparkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik Hasil Uji FTIR

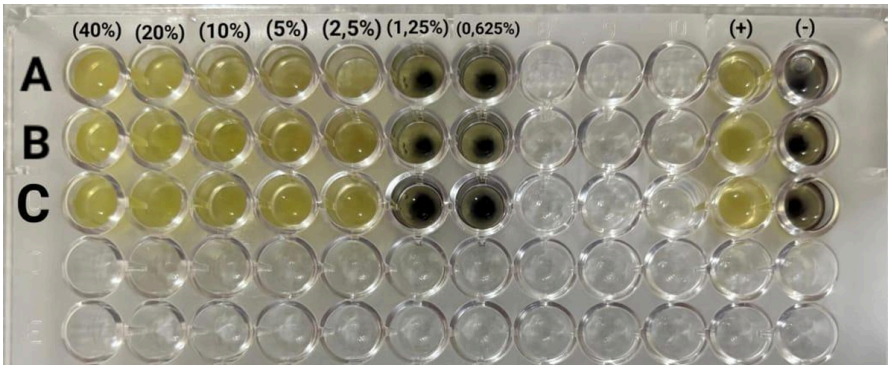
Berdasarkan grafik dan tabel hasil analisis FTIR, identifikasi gugus fungsi ekstrak kitosan cangkang *Scylla serrata* teramati keberadaan gugus fungsi hidroksil (O—H) yang mengalami stretching pada bilangan gelombang 3360 cm^{-1}. Selain gugus hidroksil, puncak serapan pada bilangan gelombang 3284 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi ulur gugus N—H, yang sering kali tumpah tindih dengan serapan O—H pada struktur kitosan. Keberadaan kerangka karbon alifatik pada ekstrak kitosan dikonfirmasi melalui munculnya puncak-puncak tajam pada bilangan gelombang 2919 cm^{-1}, 2874 cm^{-1} dan 2853 cm^{-1} yang merepresentasikan vibrasi ulur gugus C—H.

Keberhasilan proses deasetilasi dari kitin menjadi kitosan lebih lanjut diidentifikasi melalui munculnya pita serapan karakteristik amida. Puncak pada 1644 cm^{-1} merujuk pada vibrasi ulur karbonil (C=O) amida I, sementara puncak pada bilangan gelombang 1582 cm^{-1} menunjukkan vibrasi tekuk amida II (N—H). Keberadaan puncak amida III pada bilangan gelombang 1322 cm^{-1} memperkuat identifikasi residu gugus asetil yang masih terdapat dalam struktur polimer. Selain itu, vibrasi tekuk pada gugus C—H juga terdeteksi pada bilangan gelombang 1488 cm^{-1} dan 1375 cm^{-1}.

Area sidik jari (*fingerprint region*), ditemukan puncak serapan yang signifikansi pada 1250 cm^{-1}, 1149 cm^{-1}, 1075 cm^{-1}, 1055 cm^{-1} dan 1028 cm^{-1}. Serapan tersebut mengonfirmasi keberadaan jembatan glikosidik (β-1,4) melalui vibrasi ulur C—O—C yang merupakan karakteristik utama dari senyawa polisakarida pada kitosan. Secara keseluruhan, pola spektrum FTIR yang dihasilkan menunjukkan bahwa ekstrak kitosan

cangkang *Scylla serrata* memiliki kemiripan fungsional yang tinggi dengan kitosan standar, sehingga dapat disimpulkan bahwa proses ekstraksi dan sintesis telah berhasil dilakukan.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak kitosan cangkang *Scylla serrata* terhadap bakteri *Prevotella intermedia* dilakukan menggunakan metode mikrodilusi untuk menentukan nilai KHM dan KBM. Hasil pengujian KHM menunjukkan bahwa ekstrak kitosan memiliki aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri pada rentang konsentrasi 40%, 20%, 10%, 5%, hingga 2,5%. Hal ini ditandai dengan tidak adanya perubahan warna (tetap jernih) pada sumuran uji setelah penambahan indikator MTT, yang mengindikasikan ketiadaan aktivitas metabolik bakteri. Sebaliknya, pada konsentrasi 1,25% dan 0,625%, terjadi perubahan warna larutan menjadi ungu yang menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri. Berdasarkan hasil tersebut, nilai KHM ekstrak kitosan cangkang kepiting bakau terhadap *Prevotella intermedia* ditetapkan sebesar 2,5%.



Gambar 2. Hasil uji aktivitas antibakteri setelah inkubasi dan setelah diberikan MTT

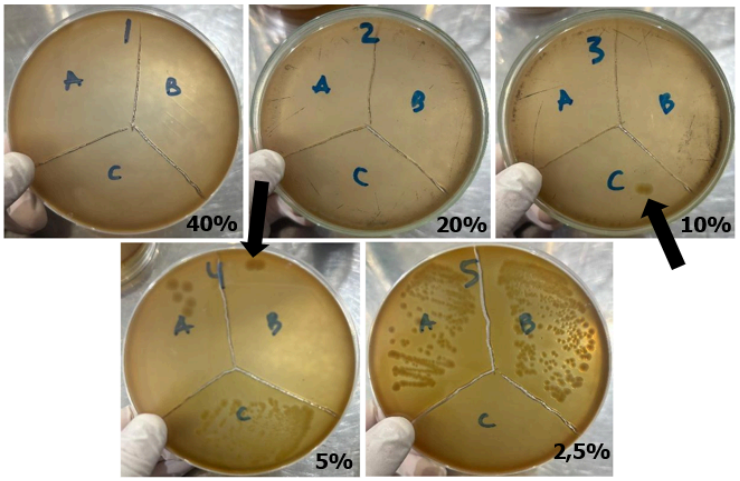
Gambar 2 menunjukkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol tulang ikan patin (Pangasius djambal) terhadap Prevotella intermedia menggunakan metode mikrodilusi setelah inkubasi dan penambahan indikator MTT. Pengujian dilakukan pada tujuh konsentrasi ekstrak, yaitu 40%, 20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, dan 0,625%, dengan tiga kali replikasi (A, B, dan C). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada konsentrasi 40%, 20%, 10%, dan 5%, seluruh sumuran tetap berwarna kuning, yang mengindikasikan tidak terdeteksinya aktivitas metabolik bakteri berdasarkan indikator MTT. Sebaliknya, pada konsentrasi 2,5%, 1,25%, dan 0,625%, sumuran menunjukkan perubahan warna menjadi gelap atau keunguan, yang mengindikasikan adanya aktivitas metabolik bakteri. Berdasarkan hasil tersebut, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol tulang ikan patin ditetapkan sebesar 5%, yaitu konsentrasi terendah yang tidak menunjukkan perubahan warna pada seluruh replikasi.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak kitosan cangkang kepiting bakau dengan metode mikrodilusi setelah inkubasi 24 jam

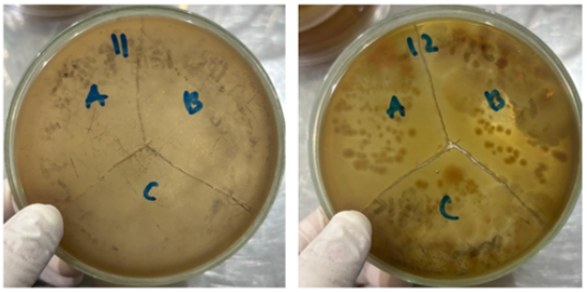
Replikasi	Ekstrak Kitosan Konsentrasi (%)							Kontrol	
	40	20	10	5	2,5	1,25	0,625	Positif	Negatif
1	+	+	+	+	+	-	-	+	-
2	+	+	+	+	+	-	-	+	-
3	+	+	+	+	+	-	-	+	-

Keterangan : (+) = Menghambat (-) = Tidak menghambat

Pengujian dilanjutkan dengan uji KBM melalui metode subkultur pada media *Blood Agar* untuk mengamati daya bunuh ekstrak. Hasil pengamatan menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 40% dan 20% setelah inkubasi selama 48 jam, yang menandakan efek bakterisidal yang efektif pada konsentrasi tersebut. Namun, pada konsentrasi yang lebih rendah (10%, 5%, dan 2,5%), pertumbuhan koloni bakteri masih teramati pada permukaan media. Dengan demikian, nilai KBM ekstrak kitosan cangkang kepiting bakau terhadap bakteri *Prevotella intermedia* ditetapkan sebesar 20% (Tabel 1).



Gambar 3. Hasil uji KBM ekstrak kitosan setelah diinkubasi salama 48 jam



Gambar 4. Kontrol Positif (*Chlorhexidine gluconate* 0,2%) dan Kontrol Negatif (Asam asetat 1%)

Table 2. Hasil Uji KBM Ekstrak Kitosan Cangkang Kepiting Bakau terhadap Pertumbuhan bakteri *Prevotella intermedia*

Replikasi	Ekstrak Kitosan Konsentrasi (%)					Kontrol	
	40	20	10	5	2,5	Positif	Negatif
1	+	+	+	+	+	+	-
2	+	+	+	+	+	+	-
3	+	+	+	+	+	+	-

Keterangan:
(+) = Terdapat koloni bakteri *Prevotella intermedia* (-) = Tidak terdapat koloni bakteri *Prevotella intermedia*

Berdasarkan gambar tersebut, hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak kitosan pada konsentrasi 40% dan 20% menghasilkan tanda negatif (-) pada seluruh replikasi. Pada konsentrasi 10%, tanda positif (+) muncul pada replikasi ketiga, sedangkan replikasi pertama dan kedua menunjukkan hasil negatif (-). Konsentrasi 5% menunjukkan hasil positif (+) pada ketiga replikasi, sementara konsentrasi 2,5% menunjukkan hasil positif (+) pada replikasi pertama dan kedua serta negatif (-) pada replikasi ketiga. Pada kelompok kontrol, kontrol positif menunjukkan hasil negatif (-) pada seluruh replikasi, sedangkan kontrol negatif menunjukkan hasil positif (+) pada seluruh replikasi. Hasil ini memperlihatkan adanya perbedaan respons pada setiap konsentrasi ekstrak kitosan berdasarkan hasil pengamatan yang ditunjukkan pada tabel 2.

PEMBAHASAN

Implementasi FTIR dalam penelitian kualitatif bertujuan untuk mengidentifikasi identitas struktural suatu senyawa melalui pemetaan gugus-gugus fungsional yang terdeteksi dalam panjang gelombang tertentu.[24] Analisis spektrum FTIR pada ekstrak kitosan cangkang *Scylla serrata* merupakan langkah krusial untuk memverifikasi keberhasilan transformasi kimia dari kitin menjadi kitosan. Berdasarkan hasil analisis FTIR, spektrum ekstrak kitosan cangkang *Scylla serrata* memperlihatkan puncak-puncak serapan yang mengindikasikan keberadaan gugus fungsi karakteristik kitosan pada gambar 1.

Puncak serapan pada rentang bilangan gelombang 3360 cm^{-1} dan 3284 cm^{-1} masing-masing mengindikasikan keberadaan gugus fungsi amina (N—H) dan hidroksil (O—H) yang mengalami vibrasi ulur pada kitosan.

Vibrasi ulur merupakan pergerakan ritmis atom atom di sepanjang poros ikatan kimia yang mengakibatkan perubahan jarak antar atom, baik berupa elongasi (perpanjangan) maupun kompresi (pemendekan), tanpa disertai perubahan pada sudut ikatan.[24] Hal ini selaras dengan pernyataan Lubis & Herlinawati,[25] bahwa karakteristik vibrasi ulur pada gugus fungsi N—H dan O—H pada kitosan standar secara umum masing-masing terdeteksi dalam rentang bilangan gelombang 3300-3500 cm^{-1} dan 3200-3600 cm^{-1}.

Analisis spektrum FTIR juga menunjukkan adanya puncak serapan pada bilangan gelombang 2919 cm^{-1}, 2874 cm^{-1} dan 2853 cm^{-1} yang mengindikasikan keberadaan vibrasi ulur dari gugus fungsi C—H alifatik. Temuan ini selaras dengan penelitian Sihotang *et al*.,[26] yang mengindentifikasi vibrasi ulur gugus C—H pada bilangan gelombang 2875,88 cm^{-1}. Selain itu, Shahadha *et al*.,[27] melaporkan bahwa serapan pada area 2918,30 cm^{-1} dan 2877,79 cm^{-1} masing masing merujuk pada vibrasi ulur dari gugus metil (CH_3) dan metilen (CH_2) yang mengonfirmasi keberadaan ikatan C—H alifatik dalam struktur molekul kitosan. Hal tersebut diperkuat oleh pernyataan Islam *et al*.,[28] bahwa karakteristik vibrasi ulur gugus C-H pada kitosan standar secara umum terdeteksi dalam rentang bilangan gelombang 2950—2800 cm^{-1}.

Puncak serapan pada bilangan gelombang 1644 cm^{-1} mengindikasikan adanya gugus fungsi karbonil (C=O) yang mengalami vibrasi ulur pada ikatan amida I. Sementara itu, puncak serapan pada bilangan gelombang 1582 cm^{-1} menunjukkan adanya ikatan amida II (N—H) yang mengalami vibrasi tekuk. Vibrasi tekuk merupakan pergerakan ritmis atom-atom pada sudut ikatan antaratom, dimana mekanisme tersebut memicu pembesaran maupun pengecilan sudut ikatan sementara panjang ikatan antaratom tetap konstan.[24] Hal ini serupa dengan penelitian Yasayan,[29] yang menyatakan bahwa pada bilangan gelombang 1656 cm^{-1} terdapat ikatan amida I yang mengalami vibrasi ulur dan pada bilangan gelombang 1586 cm^{-1} terdapat ikatan amida II yang mengalami vibrasi tekuk.

Selain itu, Huang *et al*.,[30] menyatakan bahwa munculnya puncak serapan pada bilangan gelombang 1650 cm^{-1} dan 1595 cm^{-1} merupakan representasi dari vibrasi gugus amida. Hossain *et al*.,[31] melaporkan bahwa keberadaan gugus fungsi C=O amida I yang mengalami vibrasi ulur pada bilangan gelombang 1622,21 cm^{-1} serta gugus fungsi N—H amida II yang mengalami vibrasi tekuk pada bilangan gelombang 1550 cm^{-1}, mengindikasikan adanya residu gugus *N-asetil* dalam molekul kitosan.

Keberadaan gugus fungsi C—H yang mengalami vibrasi ulur dari ekstrak kitosan cangkang *Scylla serrata* dibuktikan dengan munculnya puncak serapan pada bilangan gelombang 1418 cm^{-1} dan 1375 cm^{-1}. Hal ini serupa dengan penelitian Elhaes *et al*.,[32] yang melaporkan keberadaan gugus fungsi C—H yang mengalami vibrasi tekuk pada bilangan gelombang 1420 cm^{-1} dan 1380 cm^{-1}. Hal ini juga selaras dengan penelitian Ossamulu *et al*.,[33] yang menyatakan keberadaan gugus fungsi C—H yang mengalami vibrasi tekuk pada bilangan gelombang 1401,5 cm^{-1}. Secara umum, keberadaan gugus fungsi C—H yang mengalami vibrasi tekuk pada kitosan standar terdeteksi pada rentang bilangan gelombang 1350—1480 cm^{-1}.[25]

Keberadaan gugus fungsi C—N pada amida III yang mengalami vibrasi ulur pada panjang gelombang 1322 cm^{-1} mencerminkan adanya residu unit *N-asetil*-D glukosamin yang masih terdistribusi dalam rantai polimer glukosamin. Temuan ini didukung secara kuat oleh penelitian Ficano *et al*.,[34] yang melaporkan bahwa pada panjang gelombang 1322 cm^{-1} ditemukan keberadaan gugus fungsi C—N pada amida III yang mengalami vibrasi ulur. Hal ini selaras dengan penelitian yang Esnaashari *et al*.,[35] yang menyatakan bahwa pada panjang gelombang 1322 cm^{-1} terdapat gugus fungsi C—N pada amida III yang mengalami vibrasi ulur. Penelitian yang dilakukan oleh Esnaashari & Zahmatkesh,[36] juga melaporkan keberadaan gugus fungsi C—N pada amida III yang mengalami vibrasi ulur pada panjang gelombang 1322 cm^{-1}.

Puncak serapan pada bilangan gelombang 1250 cm^{-1}, 1149 cm^{-1}, 1075 cm^{-1} dan 1055 cm^{-1} mengindikasikan keberadaan gugus fungsi C—O—C yang berkaitan dengan struktur polisakarida kitosan. Hal ini selaras dengan penelitian Elhaes *et al*.,[32] yang melaporkan keberadaan gugus fungsi C—O—C pada bilangan gelombang 1150-1035 cm^{-1}. Osazuwa *et*

al.,[37] juga menunjukkan puncak serapan pada rentang bilangan gelombang 1000-1250 cm^{-1}, yang disebabkan oleh getaran vibrasi ulur gugus fungsi C—O—C pada kitosan yang disintesis. Secara umum, keberadaan gugus fungsi C—O—C pada kitosan standar terdeteksi pada rentang bilangan gelombang 1000-1300 cm^{-1}.[25]

Adanya sedikit pergeseran nilai puncak serapan dibandingkan dengan penelitian lain, hasil analisis menunjukkan korelasi terhadap gugus fungsi yang serupa. Konsistensi ini mempertegas karakterisasi sampel sebagai kitosan, yang ditandai dengan kehadiran gugus fungsi utama seperti vibrasi ulur dan tekuk pada O—H, C=O serta C—O. Keberadaan gugus-gugus tersebut mengindikasikan bahwa integritas sifat kimia esensial kitosan tetap terjaga meskipun telah melalui tahapan ekstraksi.[38]

Berdasarkan hasil pengujian yang ditunjukkan pada Tabel 2, diketahui bahwa ekstrak kitosan cangkang *Scylla serrata* pada konsentrasi 40% dan 20%, tidak ditemukan adanya pertumbuhan koloni bakteri pada permukaan media *Blood Agar* setelah inkubasi selama 48 jam dengan tiga kali replikasi dalam kondisi anaerob. Ketiadaan pertumbuhan koloni bakteri *Prevotella intermedia*, yang secara makroskopis ditandai dengan tidak adanya bintik-bintik berpigmen hitam kecokelatan pada media *Blood Agar*, mengindikaskan bahwa pada konsentrasi tersebut kitosan memiliki efek bakterisidal yang efektif.[39] Sebaliknya, pada konsentrasi yang lebih rendah, yaitu pada konsentrasi 10%, 5% dan 2,5%, pertumbuhan koloni bakteri tetap teramati pada media *Blood Agar*.

Gambar 2 hasil pengujian mikrobiologis menunjukkan bahwa ekstrak kitosan cangkang *Scylla serrata* memiliki aktivitas antibakteri yang jelas terhadap bakteri Prevotella intermedia dengan penetapan KKHM sebesar 2,5% dan KBM sebesar 20%. Tabel 1 Hasil ini mengindikasikan bahwa daya hambat kitosan bergantung pada konsentrasi (*concentration-dependent*). Pada konsentrasi 2,5%, kitosan mampu menghentikan replikasi bakteri melalui mekanisme bakteriostatik, namun diperlukan konsentrasi yang lebih tinggi, yaitu 20%, untuk mencapai efek bakterisidal total yang mematikan sel bakteri sepenuhnya.

Gambar 3 temuan ini menunjukkan konsistensi yang signifikan dengan penelitian terdahulu mengenai efikasi kitosan krustasea terhadap bakteri patogen periodontal. Nilai KHM dan KBM yang diperoleh identik dengan hasil pengujian kitosan sisik ikan haruan terhadap *Porphyromonas gingivalis*, yang menegaskan adanya profil aktivitas yang stabil bagi biopolimer ini dalam menginterupsi pertumbuhan kelompok bakteri anaerob Gram-negatif.[40] Selain itu, potensi kitosan konvensional dari *Scylla serrata* ini memiliki daya hambat yang hampir sebanding dengan kitosan berbasis teknologi nanopartikel dari sumber lain.[25] Substantivitas kationik yang tinggi memberikan prospek bagi kitosan sebagai agen profilaksis alami yang efektif dalam meminimalkan koloni patogen oral.[41]

Aktivitas antibakteri kitosan yang teramati dalam penelitian ini dapat dijelaskan melalui beberapa mekanisme molekuler yang saling berkaitan, terutama mengingat bakteri *Prevotella intermedia* adalah bakteri Gram negatif. Bakteri Gram negatif memiliki membran luar yang kaya akan Lipopolisakarida (LPS) dan protein porin yang memberikan muatan negatif pada permukaan sel.[42] Gugus amina penyusun kitosan yang terprotonasi menjadi ion amonium ($NH3^{+}$) dalam media asam (seperti pelarut asam asetat) akan berikatan secara elektrostatik dengan gugus fosfat dan karboksil yang bermuatan negatif pada LPS.

Interaksi kationik-anionik ini menyebabkan gangguan pada keseimbangan ionik membran, terutama menggeser ion divalen stabilisator seperti Ca^{2+} dan Mg^{2+}, yang berujung pada ketidakstabilan sktruktural dan peningkatan permeabilitas membran luar bakteri. Kerusakan pada integritas membran tersebut memicu ketidakseimbangan osmotik internal dan menyebabkan kebocoran konstituen intraseluler yang vital seperti ion kalium (K^{+}), protein dan asam nukleat.[43]

Selain gangguan fisik pada membran, literatur terbaru menunjukkan bahwa molekul kitosan mampu melakukan penetrasi lebih jauh ke dalam sitoplasma bakteri dan berikatan langsung dengan molekul DNA melalui interaksi dengan gugus fosfat pada asam nukleat. Fenomena ini secara otomatis menghambat enzim RNA polimerase, yang menghentikan proses transkripsi mRNA dan sintesis protein esensial, sehingga menyebabkan kegagalan metabolik sistemik dan kematian seluler pada bakteri.[44]

Perbedaan hasil penelitian ini dengan penelitian terdahulu dapat dikaitkan dengan berbagai faktor intrinsik, termasuk sumber asal kitosan, berat molekul, derajat deasetilasi dan jenis pelarut yang digunakan.[38] Di sisi lain, faktor ekstrinsik mencakup tingkat pH lingkungan, suhu, keberadaan materi organik serta jenis kultur bakteri yang diuji.[45] Di

antara berbagai variabel tersebut, derajat deasetilasi (DD) memegang peranan yang sangat krusial. Derajat deasetilasi dapat diklasifikasikan menjadi tiga kategori utama: DD rendah (50%- 60%), DD sedang atau menengah (70%-85%) dan DD tinggi (>85%-95%).

Sampel kitosan dengan nilai DD yang lebih tinggi terbukti lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri.[46] Fenomena ini terjadi karena semakin tinggi nilai DD, semakin besar proporsi gugus amina bebas yang terprotonasi dan bermuatan positif, yang diakui sebagai situs reaktif utama pada molekul kitosan.[47] Nilai KHM sebesar 2,5% dan KBM sebesar 20% yang dihasilkan dalam penelitian ini memiliki korelasi erat dengan nilai derajat deasetilasi yang dihasilkan yaitu 79,57%, yang dikategorikan sebagai *middle deacetylation degree*.

Meskipun nilai DD yang dihasilkan sudah cukup tinggi untuk memberikan densitas muatan kationik yang mampu menginduksi efek bakteriostatik pada konsentrasi rendah, namun eliminasi total sel bakteri (efek bakterisidal) memerlukan konsentrasi yang lebih tinggi untuk mengatasi stabilitas membran luar *P. intermedia* yang kaya akan lipopolisakarida. Gonciarz *et al*.,[43] menegaskan bahwa ketersedian gugus amina bebas yang terprotonasi menjadi -$NH3^+$ sangat bergantung pada nilai DD, dimana kitosan dengan DD rendah hingga menengah memerlukan konsentrasi yang lebih besar untuk menghasilkan tekanan osmotik yang cukup kuat guna memicu kebocoran konstituen intraseluler secara irreversibel.

Efikasi ekstrak kitosan cangkang *Scylla serrata* sebagai agen antibakteri dievaluasi berdasarkan perbandingan nilai KHM dan KBM. Sesuai dengan kriteria klasifikasi Jubair *et al*.,[48] mekanisme kerja suatu senyawa dapat diidentifikasi melalui rasio KBM/KHM, dimana suatu substansi dinyatakan bersifat bakterisidal jika nilai rasio ≤ 4 dan bersifat bakteriostatik apabila rasio menunjukkan nilai > 4. Berdasarkan hasil penelitian, perhitungan perbandingan antara nilai KBM (20%) dan KHM (2,5%) menghasilkan nilai rasio sebesar 8. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa ekstrak kitosan cangkang *Scylla serrata* pada konsentrasi yang diuji memiliki aktivitas bakteriostatik terhadap pertumbuhan bakteri *Prevotella intermedia*.

Temuan ini mengindikasikan potensi limbah cangkang kepiting bakau sebagai alternatif bahan antibakteri alami dalam bidang kedokteran gigi, khususnya untuk mengatasi patogen periodontal. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menguji formulasi dalam bentuk nanopartikel guna meningkatkan efisiensi serta melakukan uji toksisitas terhadap sel inang.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, yaitu pengujian aktivitas antibakteri dilakukan secara *in vitro* dan hanya menggunakan bakteri *Prevotella intermedia* ATCC 25611 sebagai bakteri uji, sehingga hasil penelitian belum dapat menggambarkan aktivitas kitosan pada kondisi lingkungan rongga mulut secara keseluruhan. Selain itu, karakterisasi kitosan dalam penelitian ini terbatas pada analisis FTIR dan penentuan derajat deasetilasi, sehingga karakteristik fisikokimia lainnya yang berpotensi memengaruhi aktivitas antibakteri belum dievaluasi. Penelitian ini juga belum mengevaluasi mekanisme antibakteri secara langsung serta aspek biokompatibilitas kitosan terhadap sel inang. Oleh karena itu, penelitian selanjutnya diperlukan untuk melengkapi karakteristik kitosan, mengkaji mekanisme antibakteri, serta mengevaluasi biokompatibilitas dan efektivitas kitosan melalui pengujian *in vivo*.

SIMPULAN

Ekstrak kitosan dari cangkang *Scylla serrata* memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *P. intermedia* dengan nilai KHM sebesar 2,5% serta mampu membunuh bakteri *P. intermedia* dengan nilai KBM sebesar 20%. Implikasi penelitian ini menunjukkan bahwa kitosan yang diperoleh dari cangkang *Scylla serrata* berpotensi dikembangkan sebagai sumber bahan antibakteri alami untuk pengendalian bakteri *P.intermedia* dan bakteri patogen periodontal lainnya.

Ucapan terima kasih: semua penulis mengucapkan terima kasih kepada semua yang terlibat dalam penyusunan artikel ini

Kontribusi Penulis: Konseptualisasi, Y.G.; Y.S.; P.C.B.; A.A dan M.M.; metodologi, Y.G.; Y.S.; P.C.B.; A.A dan M.M.; perangkat lunak, Y.G.; validasi, Y.S.; P.C.B.; A.A dan M.M. analisis formal, Y.G.; investigasi, Y.G.; sumber

daya, Y.G.; kurasi data, Y.S.; P.C.B.; A.A dan M.M. penulisan—penyusunan draft awal, Y.G.; Y.S.; P.C.B.; A.A dan M.M.; penulisan-tinjauan dan penyuntingan, Y.G.; Y.S.; P.C.B.; A.A dan M.M.; visualisasi, Y.G.; Y.S.; P.C.B.; A.A dan M.M.; supervisi, Y.G.; Y.S.; P.C.B.; A.A dan M.M.; administrasi proyek, Y.G.; Y.S.; P.C.B.; A.A dan M.M.; perolehan pendanaan, Y.G.; Y.S.; P.C.B.; A.A dan M.M.; Semua penulis telah membaca dan menyetujui versi naskah yang diterbitkan."

Pendanaan: Penelitian ini tidak menerima dana dari pihak luar.

Persetujuan Etik: Penelitian ini dilaksanakan sesuai dengan deklarasi Helsinki, dan telah disetujui oeh atau Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman (No. 208/KEPK-FK/XI/2025) dan tanggal pengesahan pada 26 November 2025.

Pernyataan Persetujuan Subjek Penelitian: Ketersediaan data penelitian dapat diperoleh melalui email korespondensi penulis

Pernyataan Ketersediaan Data: Ketersediaan data penelitian dapat diperoleh melalui email korespondensi penulis dengan memperhatikan etika dalam penelitian

Konflik Kepentingan: Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan

DAFTAR PUSTAKA

1. Chatzopoulos GS, Jiang Z, Marka N, Wolff LF. Periodontal disease, tooth loss, and systemic conditions: an exploratory study. Int Dent J. 2024;74(2):207–215. https://doi.org/10.1016/j.identj.2023.08.002
2. Scabra AR, Arnawati IAA, Suryani D, Elizar LJA, Sanjaya IKA, Aryasta IBPB, Damayanti IAA. Kesehatan mulut dan risiko penyakit periodontal. J Pepadu. 2024;5(4):782–787. https://doi.org/10.29303/pepadu.v5i4.6055
3. Perdana KM, Suparono R. Potensi patch mukoadhesif kombinasi daun sirih hijau, gamir dan biji pinang pada penyakit periodontal. J Ilmu Kedokt Gigi. 2021;4(1):29–34. https://doi.org/10.23917/jikg.v4i1.15983
4. Tim Riskesdas 2018. Laporan Nasional RISKESDAS 2018. Jakarta: Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (LPB); 2019. p. 204.
5. Adnyasari NLPSM, Syahriel D, Haryani IGAD. Plaque control in periodontal disease. Interdental J Ked Gigi (IJKG). 2023;19(1):55–61. https://doi.org/10.46862/interdental.v19i1.6093
6. Zhang S, Zhao Y, Lalsiamthara J, Peng Y, Qi L, Deng S, Wang Q. Current research progress on Prevotella intermedia and associated diseases. Crit Rev Microbiol. 2025;51(4):545–562. https://doi.org/10.1080/1040841X.2024.2390594
7. Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, editors. Newman and Carranza's Clinical Periodontology. 13th ed. St. Louis: Saunders Elsevier; 2018.
8. Dayakar MM, Bhat S, Lakshmi KNB. Prevotella intermedia—an overview and its role in periodontitis. J Adv Clin Res Insights. 2021;8(4):79–82. https://doi.org/10.15713/ins.jcri.336
9. Piwat S, Basic A, Pahumunto N, Teanpaisan R, Dahlén G. Periodontal diseases in Thai schoolchildren: clinical and microbiological observations. Odontology. 2024;112(1):232–241. https://doi.org/10.1007/s10266-023-00817-w
10. Aragón N, Jaramillo-Echeverry A, Ramirez-Malule H. Bibliometric analysis of bacterial resistance on periodontal disease. J Appl Pharm Sci. 2021;11(4):118–124. https://doi.org/10.7324/JAPS.2021.110414-1
11. Ratna Ningsih SN, Tania E, Azizah NN, Lutfiah SL, Gunarti NS. Aktivitas antibakteri kitosan dari berbagai jenis bahan baku hewani: review. J Buana Farma. 2022;2(4):25–30. https://doi.org/10.36805/jbf.v2i4.576
12. Ardian A, Saputra F, Hadari Nawawi JH, Barat K. Kualitas habitat kepiting bakau (Scylla serrata Forsskål) di perairan Pantai Desa Sengkubang, Kecamatan Mempawah Hilir, Kabupaten Mempawah. J Protobiont. 2022;11(2):44–50. https://doi.org/10.26418/protobiont.v11i2.60716
13. Mashuni M, Natsir M, Lestari WM, Hamid FH, Jahiding M. Pemanfaatan kitosan dari cangkang kepiting bakau (Scylla serrata) dengan metode microwave sebagai bahan dasar kapsul obat. Alchemy J Penelitian Kimia. 2021;17(1):74–82. https://doi.org/10.20961/alchemy.17.1.42038.74-82
14. Baharuddin S. Uji efektivitas antijamur kitosan cangkang kepiting bakau (Scylla sp.) terhadap pertumbuhan Epidermophyton floccosum dan Candida albicans. J Ilmu Kefarmasian. 2021;2(2):103–111. https://doi.org/10.31764/lf.v2i2.5492
15. Kozma M, Acharya B, Bissessur R. Chitin, chitosan and nanochitin: extraction, synthesis and applications. Polymers (Basel). 2022;14(19):3989. https://doi.org/10.3390/polym14193989
16. Nadia L, Ode HL, Nilda AFW, Jonas RJ, Imran I, Nurhima N, Cahyono E. Aktivitas antibakteri kitosan dari tulang rawan cumi-cumi (Loligo sp.) terhadap bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli. J FishtecH. 2022;10(2):95–101. https://doi.org/10.36706/fishtech.v10i2.14386
17. Supotngarmkul A, Panichuttara A, Ratisoontorn C, Nawachinda M, Matangkasombut O. Antibacterial property of chitosan against Enterococcus faecalis standard strain and clinical isolates. Dent Mater J. 2020;39(3):456–463. https://doi.org/10.4012/dmj.2018-343
18. Matica MA, Aachmann FL, Tøndervik A, Sletta H, Ostafe V. Chitosan as a wound dressing starting material: antimicrobial properties and mode of action. Int J Mol Sci. 2019;20(23):5889. https://doi.org/10.3390/ijms20235889
19. Wedarti YR, Loekito LI, Pangabdian F, Andriani D. Potensi kitosan kepiting rajungan (Portunus pelagicus) dalam penghambatan pembentukan biofilm Porphyromonas gingivalis dan pertumbuhan Candida albicans. Padjadjaran J Dent Res Students. 2020;4(2):121–127. https://doi.org/10.24198/pjdrs.v4i2.26636
20. Husni P, Junaedi J, Gozali D. Penentuan aktivitas antibakteri kitosan Cilamaya terhadap Staphylococcus aureus. Farmasains J Ilm Ilmu Kefarmasian. 2024;11(1):36–47. https://doi.org/10.22236/farmasains.v11i1.14588
21. Sipahutar YH, Hutapea NS, Affifah RA, Sitorus PP. Isolasi kitosan dari limbah kulit udang Vaname. In: Prosiding Seminar Nasional Perikanan Indonesia ke-25 Politeknik Ahli Usaha Perikanan; 2024; Jakarta. p. 10–11. https://doi.org/10.15578/psnp.15291
22. Widyastuti NH, Cahyani C, Hidayat RHA. Antibacterial effectiveness of green shell nan chitosan (Perna viridis) on the growth of the bacteria Prevotella intermedia (in vitro study). Odonto Dent J. 2025;12(3):251–257. https://doi.org/10.30659/odj.12.3.251-257
23. Ghasemi M, Turnbull T, Sebastian S, Kempson I. The MTT assay: utility, limitations, pitfalls, and interpretation in bulk and single-cell analysis. Int J Mol Sci. 2021;22(23):12827. https://doi.org/10.3390/ijms222312827
24. Kombongkila O, Taunaumang H, Tumimomor F. Analisis struktur film tipis Disperse Orange-3 hasil FTIR. J FisTa Fis Terap. 2024;5(1):45–50. https://doi.org/10.53682/fista.v5i1.305
25. Lubis AB, Herlinawati. Adsorbent preparation from rice husks coated with nanochitosan from crab shells. Indones J Chem Sci Technol. 2024;7(2):162–167. https://doi.org/10.24114/ijcst.v7i2.62258
26. Sihotang TDB, Rumengan IF, Wullur S, Paransa DS, Kawung NJ, Paulus JJ. Study on the determination of chitosan functional groups

of sotong (Sepia sp.) bone extract. J Pesisir Laut Tropis. 2025;13(2):211–220. https://doi.org/10.35800/jplt.13.2.2025.63121
27. Shahadha AF, Al-Aubadi IM, Merzah NR. Preparation of chitosan from Agaricus bisporus brown stems and studying some of its physicochemical and functional properties. IOP Conf Ser Earth Environ Sci. 2023;1259(1):012070. https://doi.org/10.1088/1755-1315/1259/1/012070
28. Islam GJ, Zannah S, Mohinuddin Md. Chitosan Based Copper (II) and Cadmium Nanoparticles: Synthesis, characterization and investigation of antibacterial activity. International J Res Sci Innovation. 2024;11(6):543—561. DOI: https://doi.org/10.51244/IJRSI.2024.1106042
29. Yasayan G. Chitosan films and chitosan/pectin polyelectrolyte complexes encapsulating silver sulfadiazine for wound healing. Istanbul Journal of Pharmacy. 2020;50(3):238—244. DOI: https://doi.org/10.26650/IstanbulJPharm.2020.0021.
30. Huang Y, Shen B, Zheng C, Huang B, Zhang G, Fei P. Synthesis of Chitosan-phenolic Acid Copolymer: Exploration of structural and physicochemical properties. International J Food Sci Technology. 2022;57(12):7806—7815. https://doi.org/10.1111/ijfs.16097.
31. Hossain S, Uddin MdK. Isolation and extraction of chitosan from shrimp shells. Int J Advanced Res. 2020;8(9):657—664. http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01/11704
32. Elhaes H, Ezzat HA, Ibrahim A, Samir M, Refaat A, Ibrahim MA. Spectroscopic, Hartree-Fock and DFT study of the molecular structure and electronic properties of functionalized chitosan and Chitosan-Graphene Oxide for electronic applications. Optical and Quantum Electronics. 2024;56:458. https://doi.org/10.1007/s11082-023-05978-0
33. Ossamulu F, Evbouan S, Akanya H, Egwim E, Zobeashia SLT. Characterization of chitosan extracted from three mushroom species from Edo State, Nigeria. Ovidius University Annals of Chemistry. 2023;34(1):22—27. https://doi.org/10.2478/auoc-2023-0004
34. Ficano G, Cigognini I, Peluso E, Zurlini C, Cacace D. Green extraction of chitin from Deep-Water Red Shrimp (*Aristeus antennatus*) by-products by Means of Lactic Acid Bacteria (Lactobacillus lactis and Lactobacillus brevis) and the Yeast *Yarrowia lypolytica*. Preprints. 2025. https://doi.org/10.20944/preprints202512.1489.v1
35. Esnaashari F, Alidoust FA, Jafari N, Ghasemi M, Rahmani FA, Safsari SS, Zahmatkesh H. Berberine-ZnO loaded chitosan nanoparticles inhibits biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 through targeting extracellular polymeric substances. BMS Biotechnology. 2026;26(26). https://doi.org/10.1186/s12896026-01103-7.
36. Esnaashari F, Zahmatkesh H. Antivirulence activities of Rutin-loaded Chitosan Nanoparticles against Pathogenic *Staphylococcus aureus*. BMC Microbiology. 2024;24(328). https://doi.org/10.1186/s12866-024-03446-7
37. Osazuwa OU, Ehiawaguan EI, Obiuwevbi GJ, Amenaghawon AN. Bio inspired hydroxyapatite-chitosan composite for enhanced indigo blue dye removal: Kinetic and adsorption optimization study. J Energy Technology and Environment. 2024;6(4):15—28. DOI: https://doi.org/10.5281/zenodo.14523041.
38. Lagmay DS, Agbayani MY. Antibacterial Potential of Chitosan Extracted from the Shells of Green Mussels (Perna viridis; Linnaeus) against *Escherichia coli and Staphylococcus aureus.* Int J Agricultural Technology. 2025;21(3):927—942. DOI: https://doi.org/10.63369/ijat.2025.21.3.927-942
39. Rasheed AH, Gul SS, Azeez HA. Antibacterial and antibiofilm profiles of Thymus vulgaris essential oil on clinically isolated Porphyromonas gingivalis and Prevotella intermedia. Sulaimani Dent J. 2025;9(2):53–63. https://doi.org/10.17656/sdj.10158
40. Dania RAJ, Kania DTP, Taufiqurrahman I. Antibacterial activity of chitosan from haruan (Channa striata) fish scales against the growth of Porphyromonas gingivalis. Dentino J Kedokt Gigi. 2020;5(1):53–57. https://doi.org/10.20527/dentino.v5i1.8122.g6018
41. Samudra KAG, Soulissa AG, Widyarman AS. Antibiofilm efficacy of black tiger shrimp (Penaeus monodon) chitosan against Aggregatibacter actinomycetemcomitans and Treponema denticola. e-GiGi. 2022;10(2):162–167. https://doi.org/10.35790/eg.v10i2.39052
42. Li Y, He X, Luo G, Zhao J, Bai G, Xu D. Innovative strategies targeting oral microbial dysbiosis: unraveling mechanisms a nd advancing therapies for periodontitis. Front Cell Infect Microbiol. 2025;15:1556688. https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1556688
43. Gonciarz W, Balcerczak E, Brzeziński M, Jeleń A, Pietrzyk-Brzezińska AJ, Narayanan VHB, Chmiela M. Chitosan-based formulations for therapeutic applications: a recent overview. J Biomed Sci. 2025;32:62. https://doi.org/10.1186/s12929-025-01161-7
44. Akdaşçi E, Duman H, Eker F, Bechelany M, Karav S. Chitosan and its nanoparticles: a multifaceted approach to antibacterial applications. Nanomaterials (Basel). 2025;15(2):126. https://doi.org/10.3390/nano15020126
45. Ardean C, Davidescu CM, Nemeș NS, Negrea A, Ciopec M, Duteanu N, Negrea P, Duda-Seiman D, Musta V. Factors influencing the antibacterial activity of chitosan and chitosan modified by functionalization. Int J Mol Sci. 2021;22(14):7449. https://doi.org/10.3390/ijms22147449
46. Prananingrum W, Sularsih, Rahmitasari F, Ramadan DG, Prabowo PB, Radhianto E, Parisihni K. Antibacterial activity of chitosan from natural resource: Penaeus monodon shell with various concentrations and deacetylation degrees against Lactobacillus acidophilus. IOP Conf Ser Earth Environ Sci. 2025;1473(1):012058. https://doi.org/10.1088/1755-1315/1473/1/012058
47. Atay YH. Antibacterial activity of chitosan-based systems. In: Jana S, Jana S, editors. Functional Chitosan. Singapore: Springer; 2019. p. 457–489. https://doi.org/10.1007/978-981-15-0263-7_15
48. Jubair N, Mogana R, Fatima A, Mahdi YK, Abdullah NH. Evaluation of catechin synergistic and antibacterial efficacy on biofilm formation and acrA gene expression of uropathogenic E. coli clinical isolates. Antibiotics (Basel). 2022;11(9):1223. https://doi.org/10.3390/antibiotics11091223