

Klorofil : Jurnal Ilmu Biologi Dan Terapan, Vol. (10) No. (2) 2026
ISSN: 2598-6015 (online)
DOI : 10.30821/kfl:jibt.v10i2.31754

Jurnal Klorofil
Jurnal Ilmu Biologi Dan Terapan

Available online http://jurnal.uinsu.ac.id/index.php/klorofil

FORMULASI PARTIKEL KITOSAN-ALGINAT BERISI EKSTRAK SIRIH (*Piper betle*) DAN UJI DAYA HAMBATNYA TERHADAP *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Nur Khurotul A'in[1] , Rofiatun Solekha[2*], M. Ainul Mahbubillah[3].
[123]*Program Studi S1 Biologi, Fakultas Sains Teknologi dan Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Lamongan*
*Corresponding author: rofiatunsolekha2@gmail.com

ABSTRACT

Bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* is a major constraint in rice cultivation because it can substantially reduce crop yields. Continuous use of synthetic bactericides risks inducing pathogen resistance and environmental pollution, so safer control alternatives are needed. This study aimed to formulate chitosan-alginate particles containing betel leaf (*Piper betle*) extract (referred to here as nanocapsules) and to evaluate their antibacterial activity against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. The particles were prepared by the ionic gelation method using betel leaf extract, chitosan, and alginate in a 3 × 3 factorial design (nine formulations). Morphology and particle size of one formulation (K3S3) were analyzed using Scanning Electron Microscopy (SEM) and a Particle Size Analyzer (PSA), while antibacterial activity of all nine formulations was assessed using the agar well-diffusion method. Total polyphenol content, encapsulation efficiency, and release profile were not measured, and the assay did not include a positive control or a separate negative control. SEM of K3S3 showed irregular, aggregated particles with a rough surface. PSA of K3S3 yielded an average particle size of 330.1 nm with a Polydispersity Index (PDI) of 0.169. None of the nine formulations produced a measurable inhibition zone against the test bacteria. Whether this reflects slow release of active compounds, insufficient active concentration, or limited sensitivity of the assay cannot be determined from the present data. Thus, particles in the nanometer range were obtained for K3S3, but antibacterial activity was not observed under the tested well-diffusion conditions, and encapsulation of polyphenols remains to be demonstrated.

Keywords: antibacterial activity, chitosan-alginate, particle characterization, *Piper betle*, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.

PENDAHULUAN

Penyakit hawar daun bakteri (HDB) yang disebabkan oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* merupakan salah satu kendala serius dalam budi daya padi karena mampu menurunkan hasil panen hingga 70% pada serangan berat (Ritbamrung dkk., 2025). Bakteri ini menular melalui air, tanah, benih, dan gulma di sekitar tanaman (Ritbamrung dkk., 2025), dan serangannya menimbulkan bercak air berwarna hijau muda hingga keabu-abuan yang meluas pada daun sehingga mengganggu fotosintesis dan mempercepat kematian daun (Djatmiko dkk., 2011).

Pengendalian HDB selama ini banyak mengandalkan pestisida sintetis, namun penggunaannya secara terus-menerus berisiko menimbulkan resistensi patogen dan pencemaran tanah maupun air (Yanti dkk., 2018). Tekanan seleksi akibat aplikasi berulang mendorong resistensi genetik pada *X. oryzae* pv. *oryzae*, sementara non-selektivitas pestisida turut menekan populasi musuh alami dan memicu ledakan hama sekunder (Sinambela, 2024; Nadhira dkk., 2022). Kondisi ini mendorong perlunya alternatif pengendalian yang lebih aman bagi lingkungan.

Senyawa polifenol pada daun sirih (*Piper betle*) dikenal memiliki aktivitas antibakteri dan telah lama

dimanfaatkan sebagai bahan antiseptik alami (Wibowo dan Mubarokah, 2025). Akan tetapi, senyawa fenolik pada ekstrak sirih rentan terdegradasi oleh cahaya dan enzim serta cenderung terlepas secara tidak terkendali, sehingga efektivitasnya terhadap patogen sasaran menurun (Wathoni dkk., 2024; Sonphakdi dkk., 2024). Teknologi nanokapsul berbasis biosorben kitosan-alginat ditawarkan untuk mengatasi keterbatasan tersebut, karena kombinasi kedua biopolimer ini bersifat biokompatibel, biodegradabel, serta mampu memberikan perlindungan dan pelepasan senyawa aktif secara terkendali (Fabrikov dkk., 2024; Monica dkk., 2022; Nnamonu dkk., 2012; Malerba dan Cerana, 2018; Babaei dkk., 2022).

Secara mekanistik, aktivitas antibakteri polifenol daun sirih terutama berkaitan dengan kemampuannya merusak integritas membran sel serta mendenaturasi protein struktural dan enzim esensial bakteri, sehingga mengganggu metabolisme sel dan menyebabkan kebocoran isi sel (Sonphakdi dkk., 2024). Pada bakteri Gram negatif seperti *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, keberadaan lapisan lipopolisakarida (LPS) pada membran luar berfungsi sebagai penghalang tambahan yang membatasi penetrasi senyawa hidrofobik seperti polifenol, sehingga konsentrasi efektif yang dibutuhkan untuk menghambat bakteri Gram negatif umumnya lebih tinggi dibandingkan bakteri Gram positif (Konovalova dkk., 2017). Karakteristik ini menjadi salah satu pertimbangan penting dalam merancang sistem penghantaran yang mampu mempertahankan konsentrasi senyawa aktif tetap efektif selama periode kontak dengan sel bakteri sasaran.

Berbagai metode enkapsulasi telah dikembangkan untuk melindungi senyawa aktif berbasis polifenol dari degradasi, di antaranya emulsifikasi, spray drying, dan gelasi ionik, yang masing-masing memiliki karakteristik efisiensi enkapsulasi dan profil pelepasan yang berbeda (Niculescu, 2022; Joudeh dan Linke, 2022). Dibandingkan dengan metode emulsifikasi maupun spray drying yang umumnya memerlukan suhu tinggi atau pelarut organik yang berisiko merusak senyawa fenolik yang bersifat termolabil, metode gelasi ionik dinilai lebih sesuai untuk enkapsulasi senyawa aktif yang sensitif terhadap panas karena berlangsung pada suhu ruang dan menggunakan sistem berbasis air (Li dkk., 2022). Sistem kitosan-alginat yang dibentuk melalui gelasi ionik memanfaatkan interaksi elektrostatik antara gugus amino kitosan yang bermuatan positif dan gugus karboksilat alginat yang bermuatan negatif untuk membentuk matriks tiga dimensi yang mampu menjerap serta melepaskan senyawa aktif secara bertahap, sehingga berpotensi memperpanjang durasi aktivitas antibakteri dibandingkan aplikasi ekstrak bebas tanpa enkapsulasi (Wathoni dkk., 2024).

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini bertujuan untuk memformulasikan partikel berbasis kitosan-alginat yang mengandung ekstrak daun sirih melalui metode gelasi ionik, mengamati karakteristik fisik (morfologi dan ukuran partikel) pada satu formulasi (K3S3), serta menguji aktivitas antibakteri kesembilan formulasi terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* menggunakan metode difusi sumuran. Dalam naskah ini, "biosorben" dan "matriks pembawa" merujuk pada kitosan-alginat, sedangkan "nanokapsul" dipakai sebagai istilah kerja untuk partikel kitosan-alginat yang diformulasikan dengan ekstrak sirih; enkapsulasi ekstrak di dalam matriks belum dibuktikan secara kuantitatif.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada Februari–Juni 2026 di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Fitokimia dan Farmakognosi Universitas Muhammadiyah Lamongan, serta Laboratorium Teknologi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Bahan utama yang digunakan meliputi daun sirih (*Piper betle*) segar, kitosan, natrium alginat, asam asetat, CaCl2, larutan fosfat, etanol 96%, media Nutrient Agar (NA), dan akuades. Daun sirih hijau segar berasal dari budi daya lokal dan dideterminasi di laboratorium rujukan; kitosan memiliki derajat deasetilasi ≥75%; natrium alginat dan bahan kimia lainnya berderajat pro analisis. Alat yang digunakan antara lain timbangan analitik, rotary

evaporator, water bath, centrifuge, vortex mixer, autoklaf, Scanning Electron Microscope (SEM), dan Particle Size Analyzer (PSA).

Daun sirih dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40–50 °C, kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk. Serbuk daun sirih dimaserasi menggunakan etanol 96% dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:10 pada suhu ruang selama minimal 3 jam sambil sesekali dikocok agar proses ekstraksi berlangsung merata. Maserasi dilakukan sebanyak tiga kali menggunakan serbuk yang sama dengan penambahan pelarut baru pada setiap pengulangan. Setelah setiap proses maserasi, larutan disaring menggunakan kertas saring atau kain kasa untuk memisahkan filtrat dari ampas serbuk; apabila filtrat masih keruh, dilakukan sentrifugasi untuk memperoleh filtrat yang lebih jernih. Seluruh filtrat kemudian digabungkan dan dikonsentrasikan menggunakan rotary evaporator pada suhu waterbath 40–50 °C dengan kecepatan putar 80–120 rpm hingga diperoleh ekstrak kental berwarna hijau tua, yang selanjutnya ditimbang sebanyak 1 g dan 2 g sesuai variasi formulasi.

Biosorben kitosan-alginat (matriks pembawa) dibuat dengan mencampurkan larutan alginat 1,5% dan kitosan 0,2% dalam larutan asam asetat encer bersama CaCl2 hingga terbentuk manik-manik, yang selanjutnya dibilas dan dikeringkan pada suhu 75 °C. Digunakan asam asetat 1% (v/v) dan CaCl2 0,1 M; larutan alginat diteteskan ke larutan kitosan–CaCl2 sambil diaduk perlahan pada pH 5,0–5,5. Manik-manik ini merupakan tahap terpisah untuk pembuatan biosorben dan tidak diuji pada penelitian ini.

Partikel kitosan-alginat–ekstrak sirih (selanjutnya disebut nanokapsul sebagai istilah kerja) dibentuk dengan mencampurkan ekstrak sirih sebanyak 1 g atau 2 g sesuai variasi formulasi (tanpa ekstrak pada S1), serta kitosan dan alginat sesuai variasi massa total polimer (pada K3: 1 g kitosan dan 0,5 g alginat) ke dalam satu wadah. Larutan fosfat (pH 5–7) kemudian ditambahkan hingga volume akhir 100 mL, dan campuran diaduk menggunakan magnetic stirrer pada kecepatan 500 rpm hingga homogen sehingga dapat terbentuk kompleks polielektrolit kitosan–alginat melalui interaksi elektrostatik (gelasi ionik). Setelah pencampuran, campuran disentrifugasi pada kecepatan 4.000 rpm selama 15 menit. Supernatan dan endapan hasil sentrifugasi digabungkan kembali, kemudian dievaporasi menggunakan rotary evaporator pada suhu 40–50 °C untuk menghilangkan pelarut. Produk hasil tahap ini digunakan untuk karakterisasi dan uji antibakteri.

Formulasi partikel disusun dalam desain faktorial 3×3, yaitu variasi massa kitosan-alginat (0,5; 1; dan 1,5 gram) dan variasi konsentrasi ekstrak sirih (0, 1, dan 2 g per 100 mL larutan akhir), sehingga diperoleh sembilan kombinasi formulasi (K1S1 hingga K3S3) dengan tiga kali ulangan (n = 3), sebagaimana disajikan pada Tabel 1. Formulasi tanpa ekstrak (S1) berperan sebagai pembanding matriks tanpa ekstrak. Massa 0,5; 1; dan 1,5 g adalah massa total polimer (kitosan dan alginat) dalam 100 mL larutan akhir, dengan K3 terdiri atas 1 g kitosan dan 0,5 g alginat; konsentrasi alginat 1,5% dan kitosan 0,2% hanya merujuk pada pembuatan biosorben (manik-manik). Massa ekstrak 1 dan 2 g dipilih sebagai rentang rendah dan tinggi, dengan 0 g sebagai pembanding tanpa ekstrak.

Tabel 1. Formulasi Partikel Kitosan-Alginat–Ekstrak Sirih

Kitosan-alginat / Sirih	**0,5 g (K1)**	**1 g (K2)**	**1,5 g (K3)**
0 g/100 mL (S1)	K1S1	K2S1	K3S1
1 g/100 mL (S2)	K1S2	K2S2	K3S2
2 g/100 mL (S3)	K1S3	K2S3	K3S3

Karakteristik morfologi partikel diamati menggunakan SEM pada formulasi K3S3 setelah sampel dipadatkan melalui sentrifugasi, sedangkan ukuran partikel dan indeks polidispersitas (PDI) diukur menggunakan PSA berbasis prinsip Dynamic Light Scattering (DLS) pada formulasi yang sama. K3S3 dipilih karena memuat polimer dan ekstrak tertinggi sehingga mewakili kondisi paling ekstrem; sampel SEM

dikeringkan dan dilapisi emas, lalu diamati dengan detektor BSD pada 10 kV; sampel PSA didispersikan dalam akuades dan diukur pada 25 °C dengan tiga kali pengulangan pengukuran. Aktivitas antibakteri kesembilan formulasi diuji menggunakan metode difusi sumuran (agar well diffusion): sebanyak 50 µL formulasi (suspensi tanpa pengenceran) dimasukkan ke dalam sumuran (berdiameter 6 mm, dibuat dengan cork borer; formulasi dipipet dengan mikropipet) pada media NA yang telah diinokulasi *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30 °C. Diameter zona hambat dihitung dengan rumus:

$$Diameter\ zona\ hambat = \frac{(Dv + Dh)}{2}$$

Keterangan :
Dv = diameter vertikal (mm)
Dh = diameter horizontal (mm)

Bakteri uji adalah *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* yang diperoleh dari AGAVI Lab dan identitasnya dikonfirmasi melalui pewarnaan Gram sebelum digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri; dikultur pada media NA pada 30 °C selama 24 jam, inokulum distandardisasi pada kekeruhan 0,5 McFarland (≈ 1,5 × 10^8 CFU/mL) dan disebar merata; tiap perlakuan diuji dalam tiga ulangan; media NA dan suhu 30 °C dipilih karena lazim dipakai untuk kultur *Xanthomonas*. Pengujian ini tidak menyertakan kontrol positif maupun kontrol negatif yang diuji dalam rangkaian eksperimen yang sama; formulasi tanpa ekstrak (S1) hanya berperan sebagai pembanding matriks. Pengujian ulang direncanakan dengan kontrol positif (antibiotik standar, misalnya streptomisin), kontrol pelarut/pembawa (larutan fosfat), kontrol matriks tanpa ekstrak (S1) yang diuji dalam rangkaian yang sama, dan ekstrak bebas sebagai pembanding.

Variabel bebas penelitian adalah komposisi kitosan-alginat dan konsentrasi ekstrak sirih pada formulasi partikel, variabel terikat adalah aktivitas antibakteri (zona hambat), morfologi (SEM), dan ukuran partikel (PSA), sedangkan variabel terkontrol meliputi suhu inkubasi (30 °C), pH larutan (5–7), dan kondisi sterilitas kerja. Data diameter zona hambat disajikan secara deskriptif berdasarkan rerata dan simpangan baku dari tiga ulangan pada setiap formulasi. Unit percobaan adalah satu cawan petri, dan setiap formulasi diuji pada tiga cawan terpisah yang merupakan ulangan teknis. Uji statistik inferensial tidak dilakukan karena seluruh data bernilai identik (0,00 ± 0,00) sehingga tidak terdapat variansi antarperlakuan maupun antarulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Fisik Partikel

Partikel kitosan-alginat yang diformulasikan dengan ekstrak sirih (nanokapsul) dapat dibuat menggunakan kitosan-alginat sebagai matriks pembawa. Selama proses pencampuran tidak teramati penggumpalan secara visual, yang mengindikasikan bahwa ekstrak sirih, kitosan, dan alginat dapat tercampur homogen secara makroskopis dalam sistem formulasi. Tiga formulasi yang didokumentasikan (K1S1, K2S2, dan K3S3) menunjukkan perbedaan warna antarformulasi, namun seluruhnya tetap homogen tanpa endapan maupun pemisahan fase yang teramati secara visual (Tabel 2). Pengamatan ini bersifat kualitatif dan tidak menunjukkan bahwa ekstrak telah terenkapsulasi di dalam matriks.

Tabel 2. Karakteristik Visual Tiga Formulasi Partikel Kitosan-Alginat

Formulasi	Warna	Homogenitas	Keterangan
K1S1	Biru muda hingga kehijauan pucat	Homogen	Tanpa pemisahan fase teramati
K2S2	Merah muda pucat	Homogen	Tanpa pemisahan fase teramati
K3S3	Merah muda sangat pucat hingga hampir bening	Homogen	Tanpa pemisahan fase teramati

Morfologi (SEM) dan Ukuran Partikel (PSA)

Pengamatan morfologi menggunakan SEM pada formulasi K3S3 menunjukkan partikel membentuk agregat dengan morfologi tidak seragam (irregular),

permukaan kasar dan bertekstur, serta partikel yang saling berikatan membentuk gumpalan yang lebih besar (Gambar 1). Morfologi tidak beraturan ini dapat berkaitan dengan proses pengeringan dan interaksi antarmolekul selama preparasi sampel, dan aglomerasi dapat terjadi akibat tingginya energi permukaan partikel berukuran nano; namun, penyebab pada sampel ini belum diuji. Citra SEM hanya mewakili K3S3 sehingga tidak dapat digeneralisasi ke formulasi lain. Pada perbesaran 1000× (scale bar 150 μm), struktur yang tampak kemungkinan merupakan agregat berukuran puluhan mikrometer yang terbentuk dari partikel-partikel yang saling menempel setelah sampel dipadatkan melalui sentrifugasi dan dikeringkan, bukan partikel tunggal. Karena itu, ukuran struktur pada citra SEM tidak dapat dibandingkan langsung dengan ukuran partikel hasil PSA (330,1 nm) yang mengukur ukuran hidrodinamik partikel dalam dispersi; pengamatan partikel individual berukuran nanometer memerlukan perbesaran yang jauh lebih tinggi.

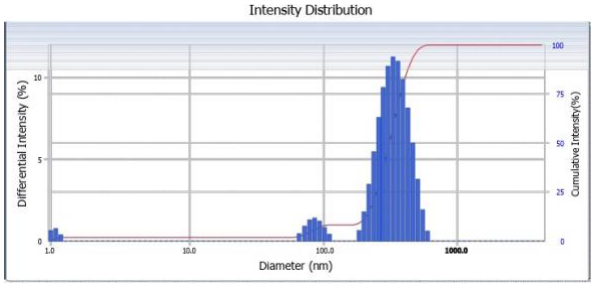


Gambar 1. Morfologi permukaan agregat partikel K3S3 hasil pengamatan SEM pada perbesaran 1000×

Hasil karakterisasi menggunakan PSA pada formulasi K3S3 menunjukkan ukuran partikel rata-rata 330,1 nm dengan nilai Polydispersity Index (PDI) sebesar 0,169 (Tabel 3). Kurva distribusi intensitas (Gambar 2) memperlihatkan populasi utama sekitar 300–400 nm serta populasi minor pada ukuran lebih kecil (sekitar 1 nm dan 60–100 nm); populasi minor ini kemungkinan berupa partikel yang lebih kecil atau artefak pengukuran, dan asalnya belum dikonfirmasi. Nilai PDI tersebut menunjukkan distribusi yang relatif sempit untuk populasi utama, tetapi hanya berlaku bagi K3S3. Ukuran ini menunjukkan adanya partikel pada rentang nanometer, namun belum membuktikan bahwa polifenol terenkapsulasi di dalamnya. Ukuran partikel pada kisaran 300–400 nm dilaporkan masih sesuai untuk sistem penghantaran berbasis biopolimer karena memberikan keseimbangan antara stabilitas dispersi dan kapasitas membawa senyawa aktif (Danaei dkk., 2018).

Tabel 3. Ukuran Partikel Formulasi K3S3 Hasil Pengukuran PSA

Formulasi	Ukuran partikel (nm)	PDI
K3S3	330,1	0,169



Gambar 2. Kurva distribusi intensitas ukuran partikel (intensity distribution) formulasi K3S3 hasil pengukuran PSA

Aktivitas Antibakteri terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi sumuran terhadap sembilan formulasi (K1S1–K3S3). Hasil pengamatan setelah 24 jam inkubasi pada suhu 30 °C menunjukkan bahwa seluruh formulasi tidak membentuk zona hambat terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Tabel 4), sehingga nilai rerata dan simpangan baku pada seluruh perlakuan sama-sama 0,00 ± 0,00. Karena pengujian tidak menyertakan kontrol positif dan negatif dalam rangkaian yang sama, hasil nol ini hanya berlaku pada kondisi pengujian yang dilakukan dan belum dapat membedakan ketiadaan aktivitas dari keterbatasan metode.

Tabel 4. Diameter Zona Hambat Formulasi Partikel Kitosan-Alginat–Ekstrak Sirih

Perlakuan	Diameter zona hambat (mm)	Rata-rata ± SD
K1S1	0,00	0,00 ± 0,00
K1S2	0,00	0,00 ± 0,00
K1S3	0,00	0,00 ± 0,00
K2S1	0,00	0,00 ± 0,00
K2S2	0,00	0,00 ± 0,00
K2S3	0,00	0,00 ± 0,00
K3S1	0,00	0,00 ± 0,00
K3S2	0,00	0,00 ± 0,00
K3S3	0,00	0,00 ± 0,00

Tidak terbentuknya zona hambat pada seluruh formulasi merupakan hasil yang dapat dilaporkan, tetapi penyebabnya tidak dapat ditentukan dari data penelitian ini. Karakterisasi fisik hanya dilakukan pada K3S3, pelepasan senyawa aktif, kadar polifenol total, dan efisiensi enkapsulasi tidak diukur, dan tidak ada kontrol positif maupun negatif dalam rangkaian pengujian yang sama. Salah satu kemungkinan yang belum teruji adalah pelepasan senyawa aktif dari matriks kitosan-alginat yang berlangsung lambat (Balouiri dkk., 2016; Wahyuni dkk., 2021). Pada sistem kitosan-alginat, interaksi elektrostatik antara gugus amino kitosan yang bermuatan positif dan gugus karboksilat alginat yang bermuatan negatif membentuk jaringan polimer tiga dimensi yang dilaporkan dapat menahan senyawa aktif di dalam matriksnya (Oktarina dkk., 2017; Li dkk., 2022), dan jaringan yang lebih rapat dilaporkan memperlambat difusi senyawa menuju media agar (Komariah, 2014); apakah hal ini terjadi pada formulasi penelitian ini belum diketahui.

Kemungkinan lain, yang juga belum teruji, berkaitan dengan sifat bakteri uji. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* merupakan bakteri Gram negatif dengan lapisan luar mengandung lipopolisakarida yang memberikan perlindungan tambahan terhadap senyawa antibakteri, sehingga relatif lebih sulit dihambat dibandingkan bakteri Gram positif (Konovalova dkk., 2017; Iswandana dan Sihombing, 2014). Ukuran partikel, ketebalan media, konsentrasi senyawa aktif, volume sampel, viskositas formulasi, serta lama inkubasi turut memengaruhi terbentuk atau tidaknya zona hambat pada metode difusi sumuran (Safira dkk., 2025; Nurhayati dkk., 2020; Nisyak dan Asri, 2018). Volume sampel yang digunakan, kemampuan difusi sampel di dalam agar, konsentrasi senyawa aktif, kepadatan dan kondisi inokulum, serta sensitivitas metode difusi sumuran juga merupakan penjelasan alternatif yang tidak dapat disingkirkan tanpa kontrol yang sesuai.

Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak sirih bebas (tanpa enkapsulasi) mampu menghambat berbagai bakteri patogen karena senyawa aktifnya dapat berdifusi langsung ke media (Amrulloh, 2008; Balouiri dkk., 2016). Sistem nanokapsul secara umum dirancang untuk melepaskan senyawa aktif secara terkendali (controlled release) (Cao dkk., 2023; Kourmouli dkk., 2018). Jika hal tersebut berlaku pada formulasi ini, konsentrasi polifenol yang mencapai media selama 24 jam inkubasi mungkin berada di bawah konsentrasi hambat minimum (MIC) terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*; namun pelepasan senyawa aktif dan nilai MIC tidak diukur pada penelitian ini sehingga penjelasan tersebut masih berupa hipotesis. Karena tidak ada pembanding ekstrak bebas dalam pengujian ini, perbandingan langsung dengan ekstrak bebas juga tidak dapat dilakukan.

Secara keseluruhan, nilai PDI sebesar 0,169 pada formulasi K3S3 berada pada kisaran yang umumnya dianggap dapat diterima untuk sistem nanopartikel berbasis polimer (Danaei dkk., 2018; Syaharani dkk., 2026); namun, data dari satu formulasi tidak cukup untuk menyimpulkan reprodusibilitas formulasi atau kecenderungan agregasi, terlebih SEM menunjukkan adanya agregat. Dengan demikian, pada penelitian ini partikel berukuran nano diperoleh pada K3S3 tetapi aktivitas antibakteri tidak teramati pada uji difusi sumuran selama 24 jam; hubungan antara keduanya belum dapat dijelaskan karena enkapsulasi, pelepasan, dan kontrol pengujian belum tersedia (Balouiri dkk., 2016; Fabrikov dkk., 2024).

Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu dipertimbangkan dalam menginterpretasikan hasil. Pertama, pengujian daya hambat tidak menyertakan kontrol positif (misalnya bakterisida sintetis atau antibiotik standar) maupun kontrol negatif yang teruji dalam pengujian yang sama, sehingga belum dapat dipastikan bahwa metode difusi sumuran yang digunakan cukup sensitif untuk mendeteksi aktivitas antibakteri pada kondisi pengujian ini. Kedua, konfirmasi keberhasilan enkapsulasi polifenol sirih ke dalam matriks kitosan-alginat, seperti kadar polifenol total maupun efisiensi enkapsulasi (%EE), belum dianalisis secara kuantitatif, sehingga argumen bahwa senyawa aktif tertahan di dalam matriks masih bersifat dugaan berdasarkan karakteristik pelepasan terkendali yang dilaporkan pada sistem serupa. Ketiga, karakterisasi morfologi (SEM) dan ukuran partikel (PSA) hanya dilakukan pada satu formulasi (K3S3) yang dipilih karena memuat polimer dan ekstrak tertinggi, sehingga generalisasi karakteristik fisik ke delapan formulasi lainnya perlu dilakukan dengan hati-hati. Keempat, pelepasan senyawa aktif dan nilai MIC tidak diukur sehingga penjelasan mengenai penyebab tidak terbentuknya zona hambat bersifat hipotesis, dan penjelasan alternatif (volume sampel, kemampuan difusi, konsentrasi aktif, kondisi inokulum, sensitivitas metode) belum dapat disingkirkan. Kelima, identitas isolat uji hanya dikonfirmasi melalui pewarnaan Gram sehingga konfirmasi tingkat patovar (misalnya uji patogenisitas atau uji molekuler) belum dilakukan, dan ulangan yang digunakan merupakan ulangan teknis. Keterbatasan-keterbatasan ini menjadi dasar rekomendasi penelitian lanjutan pada bagian Kesimpulan.

KESIMPULAN

Pada formulasi K3S3, pengamatan SEM menunjukkan partikel berbentuk tidak beraturan dengan agregasi, dan pengukuran PSA menunjukkan ukuran partikel rata-rata 330,1 nm dengan PDI sebesar 0,169. Karakterisasi fisik ini belum dilakukan pada delapan formulasi lainnya, dan enkapsulasi ekstrak sirih belum dibuktikan secara kuantitatif. Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi sumuran menunjukkan bahwa seluruh formulasi (K1S1–K3S3) tidak membentuk zona hambat terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dalam kondisi pengujian yang dilakukan, tanpa kontrol positif dan negatif dalam rangkaian pengujian yang sama. Penyebab tidak terbentuknya zona hambat belum dapat ditentukan; pelepasan terkendali, konsentrasi senyawa aktif di bawah MIC, volume sampel, dan sensitivitas metode merupakan kemungkinan yang perlu diuji. Penelitian lanjutan disarankan untuk mengukur kadar polifenol total, efisiensi enkapsulasi, dan profil pelepasan, mengulang uji dengan kontrol positif, kontrol pelarut/pembawa, kontrol matriks, dan ekstrak bebas, menentukan nilai Minimum Inhibitory Concentration (MIC) dan Minimum Bactericidal Concentration (MBC) menggunakan metode mikrodilusi, serta menguji stabilitas fisik-kimia partikel selama penyimpanan dan efektivitasnya secara *in vivo* pada tanaman padi.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Muhammadiyah Lamongan dan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas fasilitas laboratorium yang diberikan selama penelitian ini berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

Amrulloh, I. 2008. *Uji Potensi Ekstrak Daun Sirih (Piper Betle L.) Sebagai Antimikroba terhadap Bakteri Xanthomonas oryzae pv. oryzae dan Jamur Fusarium oxysporum*. Universitas Islam Negeri Malang.

Babaei, S., Kahrizi, D., Nosratti, I., Karimi, N., Arkan, E., dan Tahir, M. B. 2022. Preparation and Characterization of Chloridazon-Loaded Alginate/Chitosan Nanocapsules. *Cellular and Molecular Biology*. Vol. 68. No. 3. Hal. 34–42.

Balouiri, M., Sadiki, M., dan Ibnsouda, S. K. 2016. Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. Vol. 6. No. 2. Hal. 71–79.

Cao, J., Gao, M., Wang, J., Liu, Y., Zhang, X., Ping, Y., Liu, J., Chen, G., Xu, D., Huang, X., dan Liu, G. 2023. Construction of Nano Slow-Release Systems for Antibacterial Active Substances and Its

Applications: A Comprehensive Review. *Frontiers in Nutrition*. Vol. 10. Hal. 1109204.

Danaei, M., Dehghankhold, M., Ataei, S., Davarani, F. H., Javanmard, R., Dokhani, A., Khorasani, S., dan Mozafari, M. R. 2018. Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. *Pharmaceutics*. Vol. 10. No. 2. Hal. 57.

Djatmiko, H. A., Prakoso, B., dan Prihatiningsih, N. 2011. Penentuan Patotipe dan Keragaman Genetik Xanthomonas oryzae pv. oryzae pada Tanaman Padi di Wilayah Karesidenan Banyumas. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. Vol. 11. No. 1. Hal. 35–46.

Fabrikov, D., Ábrahám, T., Vargas, M., Péter, G., dan Gábor, B. 2024. Antimicrobial and Antioxidant Activity of Encapsulated Tea Polyphenols in Chitosan/Alginate-Coated Zein Nanoparticles: A Possible Supplement against Fish Pathogens in Aquaculture. *Environmental Science and Pollution Research*. Vol. 31. No. 9. Hal. 13673–13687.

Iswandana, R., dan Sihombing, L. K. M. 2014. Formulasi, Uji Stabilitas Fisik, dan Uji Aktivitas Secara In Vitro Sediaan Spray Antibau Kaki yang Mengandung Ekstrak Etanol Daun Sirih (Piper betle L.). *Pharmaceutical Sciences and Research*. Vol. 4. No. 3. Hal. 121–131.

Joudeh, N., dan Linke, D. 2022. Nanoparticle Classification, Physicochemical Properties, Characterization, and Applications: A Comprehensive Review for Biologists. *Journal of Nanobiotechnology*. Vol. 20. Hal. 262.

Komariah, A. 2014. Antibacterial Activity of Nano Chitosan on Staphylococcus aureus (In Vitro). *Prosiding Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi FKIP UNS*. Hal. 371–377.

Konovalova, A., Kahne, D. E., dan Silhavy, T. J. 2017. Outer Membrane Biogenesis. *Annual Review of Microbiology*. Vol. 71. Hal. 539–556.

Kourmouli, A., Valenti, M., Kalantzi, O., Schmidt-Ott, A., dan Biskos, G. 2018. Can Disc Diffusion Susceptibility Tests Assess the Antimicrobial Activity of Engineered Nanoparticles? *Journal of Nanoparticle Research*. Vol. 20. Hal. 62.

Li, S., Zhang, H., Chen, K., Jin, M., Vu, S. H., Jung, S., He, N., Zheng, Z., dan Lee, M. 2022. Application of Chitosan/Alginate Nanoparticle in Oral Drug Delivery Systems: Prospects and Challenges. *Drug Delivery*. Vol. 29. No. 1. Hal. 1142–1149.

Malerba, M., dan Cerana, R. 2018. Recent Advances of Chitosan Applications in Plants. *Polymers*. Vol. 10. No. 2. Hal. 118.

Monica, A., Sutedja, A. M., dan Mandala, W. 2022. Peranan Alginat sebagai Material Enkapsulan. *Jurnal Teknologi Pangan*. Hal. 282–295.

Nadhira, N. E., Wafa, A., Fanata, W. I. D., dan Addy, H. S. 2022. Resistance Gene Expression in Selected Indonesian Pigmented Rice Varieties Against Infection by Xanthomonas oryzae pv. oryzae. *Indonesian Journal of Biotechnology*. Vol. 27. No. 2. Hal. 51–57.

Niculescu, A.-G., dan Grumezescu, A. M. 2022. Applications of Chitosan-Alginate-Based Nanoparticles—An Up-to-Date Review. *Nanomaterials*. Vol. 12. No. 2. Hal. 186.

Nisyak, C., dan Asri, T. 2018. Efektivitas Ekstrak Kulit Batang dan Biji Mahoni (Swietenia mahagoni) sebagai Antibakteri Xanthomonas campestris Penyebab Penyakit Busuk Hitam pada Tanaman Kubis. *LenteraBio*.

Nnamonu, L. A., Sha'ato, R., dan Onyido, I. 2012. Alginate Reinforced Chitosan and Starch Beads in Slow Release Formulation of Imazaquin Herbicide—Preparation and Characterization. *Materials Sciences and Applications*. Vol. 3. No. 8. Hal. 566–574.

Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., dan Hidayatulloh, A. 2020. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*. Vol. 1. Hal. 41–46.

Oktarina, E., Adrianto, R., dan Setiawati, I. 2017. Imobilisasi Bakteri pada Kitosan-Alginat dan Kitin-Alginat. *Majalah Teknologi Agro Industri (Tegi)*. Vol. 9. No. 2.

Ritbamrung, O., Inthima, P., Ratanasut, K., Sujipuli, K., Rungrat, T., dan Buddhachat, K. 2025. Evaluating Xanthomonas oryzae pv. oryzae (Xoo) Infection Dynamics in Rice for Distribution Routes and Environmental Reservoirs by Molecular Approaches. *Scientific Reports*. Vol. 15. No. 1. Hal. 1–12.

Safira, L., Putri, Y., Munandar, H., dan Miswanda, D. 2025. Determination of Minimum Inhibitory Concentrations and Minimum Killing Concentrations of Matoa Leaf (Pometia pinnata) Ethanol Extract and Nanoparticles against Cutibacterium acnes. *Jurnal Farmasi*. Vol. 8. No. 1. Hal. 450–466.

Sinambela, B. R. 2024. Dampak Penggunaan Pestisida dalam Kegiatan Pertanian terhadap Lingkungan Hidup dan Kesehatan. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. Vol. 8. No. 2. Hal. 178–187.

Sonphakdi, T., Tani, A., Payaka, A., dan Ungcharoenwiwat, P. 2024. Antibacterial and Toxicity Studies of Phytochemicals from Piper betle Leaf Extract. *Journal of King Saud University – Science*. Vol. 36. No. 10. Hal. 103430.

Syaharani, F. D., Jannah, S. R. N., Jumriani, dan Aswan, M. 2026. Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel Kurkumin Berbasis Kitosan-Karagenan-Asam

Hialuronat. *Jurnal Farmasi dan Sains*. Vol. 4. No. 1. Hal. 65–79.

Wahyuni, S., Fauziyah, R., Aziz, M. A., Eris, D. D., dan Prakoso, H. T. 2021. Sintesis Komposit Kitosan Berbasis Selongsong Black Soldier Fly (BSF) dengan Ekstrak Daun Kipahit dan Uji Penghambatannya terhadap Xanthomonas oryzae. *Jurnal Sains Terapan*. Vol. 5. No. 2. Hal. 16–23.

Wathoni, N., Herdiana, Y., Suhandi, C., Mohammed, A. F. A., El-Rayyes, A., dan Narsa, A. C. 2024. Chitosan/Alginate-Based Nanoparticles for Antibacterial Agents Delivery. *International Journal of Nanomedicine*. Vol. 19. Hal. 5021–5044.

Wibowo, T. S., dan Mubarokah, F. A. 2025. Pemanfaatan Daun Sirih Hijau sebagai Bahan Baku Minyak Atsiri: Inovasi dan Pemberdayaan Masyarakat. *EAsTA Journal of Innovative Community Services*. Vol. 3. No. 2. Hal. 94–104.

Yanti, S., Marlina, dan Fikrinda. 2018. Pengendalian Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Padi Sawah Menggunakan Fungi Mikoriza. *Jurnal Agroecotania*. Vol. 1. No. 2. Hal. 14–21.