



PAPER – **OPEN ACCESS**

## Evaluasi Aktivitas Antibakteri Hidrogel Hibrid Maleoil Kitosan – Dialdehid Alginat

Author : Subur P. Pasaribu, dkk  
DOI : 10.32734/st.v2i1.301  
Electronic ISSN : 2654-7074  
Print ISSN : 2654-7082

*Volume 2 Issue 1 – 2019 TALENTA Conference Series: Science and Technology (ST)*



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Published under licence by TALENTA Publisher, Universitas Sumatera Utara



# Evaluasi Aktivitas Antibakteri Hidrogel Hibrid Maleoil Kitosan – Dialdehid Alginat

Subur P. Pasaribu<sup>1\*</sup>, Jamaran Kaban<sup>2</sup>, Mimpin Ginting<sup>2</sup>, Kasmirul Ramlan Sinaga<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Doktor Ilmu Kimia FMIPA Universitas Sumatera Utara,

Jl. Bioteknologi No. 1 Kampus USU, Medan 20155, Indonesia dan Staf Pengajar Program Studi Kimia FMIPA Universitas Mulawarman, Jl. Barong Tongkok No. 4, Samarinda 75119, Indonesia

<sup>2</sup>Staf Pengajar Departemen Kimia FMIPA Universitas Sumatera Utara, Jl. Bioteknologi No. 1 Kampus USU Medan 20155, Indonesia

<sup>3</sup>Staf Pengajar Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia  
Jl. Tri Darma No. 5 Kampus USU 20155, Medan, Indonesia

subur\_pasaribu@yahoo.com, jamarankaban@yahoo.com, mimpin.ginting@yahoo.com, mirulsin@yahoo.com

## Abstrak

Telah dilakukan sintesa hidrogel hibrid maleoil kitosan (MKS)-dialdehid alginat (DAA) melalui reaksi basa Schiff antara gugus amina dari MKS dengan gugus aldehid dari DAA pada berbagai rasio perbandingan dalam larutan buffer fosfat pH 7,4. Hidrogel yang diperoleh dikarakterisasi dengan spektrofotometer FT-IR dan dilakukan uji aktivitas antibakterinya terhadap *E.coli* dan *S. aureus* untuk mengevaluasi potensinya sebagai antibakteri. Berdasarkan spektrum FT-IR, hidrogel telah berhasil disintesa dengan munculnya puncak karakteristik dari struktur hemiasetal pada  $864,11\text{ cm}^{-1}$  merupakan vibrasi stretching dari ikatan -C-N- yang menunjukkan bahwa telah terjadi reaksi kopling diantara gugus CHO pada DAA dan  $\text{NH}_2$  dari MKS dan didukung dengan adanya puncak pada  $1627,92\text{ cm}^{-1}$  yang berhubungan dengan terbentuknya gugus -C=N-. Pada uji aktivitas antibakteri hidrogel hanya perbandingan 5:5, 3:7 dan 1:9 (MKS:DAA) yang menunjukkan adanya aktivitas terhadap *E.coli* masing-masing 6,18, 8,15 dan 6,80 (mm), sedangkan terhadap *S. aureus* seluruh hidrogel menunjukkan aktivitas yaitu, 8,00, 10,10, 10,08, 8,15 dan 7,00 (mm). Aktivitas antibakteri akan meningkat seiring dengan peningkatan jumlah DAA tetapi menurun kembali seiring dengan penurunan MKS. Hal ini dapat dikaitkan dengan banyaknya ikatan *basa Schiff* yang terbentuk pada saat pembentukan hidrogel yang menyebabkan atom N bersifat kationik sehingga dapat mengikat muatan negatif pada permukaan sel bakteri. Hidrogel hibrid MKS-DAA dengan rasio perbandingan 5:5 sangat potensial digunakan sebagai hidrogel yang bersifat antibakteri untuk aplikasi biomedis.

**Kata kunci:** Antibakteri, Hidrogel MKS-DAA, Basa Schiff

## 1. Pendahuluan

Hidrogel pada saat ini telah menarik perhatian karena aplikasinya yang sangat luas terutama dibidang farmasi dan biomedis. Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengembangkan hidrogel dengan fitur gabungan seperti halnya struktur fisik tiga dimensi yang sesuai, sifat mekanik yang diinginkan, kemampuan menyerap air yang tinggi, biodegradasi dan biokompatibilitas, yang semuanya sangat diperlukan untuk aplikasi biomedis. Hidrogel adalah jaringan polimer tiga dimensi hidrofilik yang terikat silang secara fisika atau kimia yang tidak larut namun mampu menyerap dan memerangkap sejumlah besar air atau cairan biologis dan volumenya akan meningkat secara drastis[9], sehingga sangat mirip dan kompatibel dengan jaringan makhluk hidup[1,21]. Sebagai tanggapan atas

kepedulian lingkungan, penelitian yang intensif baru-baru ini diarahkan pada penggunaan polimer alami yang berlimpah seperti kitin, pati, selulosa, kitosan dan alginat untuk memproduksi hidrogel[9].

Kitosan adalah polisakarida alami yang merupakan kopolimer amina glukosa dan unit N-asetilglukosamin yang dihubungkan oleh ikatan  $\beta$ -(1-4) glikosida, diperoleh melalui deasetilasi kitin [2,7,8,9,21] secara parsial maupun penuh dan memiliki tiga jenis gugus nukleofilik fungsional yaitu  $\text{NH}_2$  pada C-2, OH sekunder C-3 dan OH primer C-6 (14), serta memiliki aktivitas antimikroba sehingga banyak aplikasi telah ditemukan baik sendiri atau dicampur dengan polimer alami yang lain [2,7,9].

Sifat aktivitas antimikroba kitosan terkait dengan struktur polikationiknya akan menghasilkan interaksi elektrostatis yang kuat dengan permukaan sel bakteri bermuatan negatif, sehingga mengganggu membran sel dan menyebabkan kebocoran [1,18]. Namun aktivitas ini terbatas hanya dalam medium asam sampai pH sekitar 6,5 ketika polimer ini dapat larut dan mengemban muatan positif [13,18,21].

Kelarutan yang buruk dari kitosan tidak dimodifikasi dalam air menyebabkan pemanfaatannya terbatas terutama dalam bidang farmasi. Oleh karena itu, derivatisasi kitosan bertujuan meningkatkan kelarutan kitosan dalam media air dan kisaran pH yang lebih luas dan pada saat bersamaan meningkatkan kemampuan sifat antimikrobanya [9,13]. Selain modifikasi dari kitosan sehingga larut air, penggabungannya dengan polimer lain diantaranya dengan alginat teroksidasi melalui keterikatan silang kimia mungkin salah satu metode yang efektif untuk mengatasi kekurangan tersebut dan untuk mendapatkan bahan campuran dengan fungsi dan sifat yang diinginkan termasuk aktivitas antimikrobanya[5].

Alginat merupakan biopolimer anionik linier dan bersifat hidrofilik, merupakan salah satu bahan yang berlimpah, biasanya diperoleh dari ganggang coklat (*Phaeophyceae*), tetapi dapat juga disintesis oleh beberapa bakteri [4,16]. Modifikasi alginat bertujuan untuk mendapatkan sifat dan fungsi yang diinginkan, salah satu diantaranya adalah dengan melakukan oksidasi gugus -OH pada posisi C-2 dan C-3 natrium alginat dengan oksidator natrium periodat sehingga menghasilkan dialdehid alginat yang akan menghadirkan gugus yang lebih reaktif dan degradasi yang lebih cepat saat digunakan untuk aplikasi biomedis [4].

Ikatan silang antara turunan kitosan dengan alginat teroksidasi dapat terjadi melalui pembentukan *basa Schiff* yang disebut juga dengan *Hugo Schiff*, yaitu senyawa organik yang terbentuk melalui reaksi kondensasi antara amina primer dengan karbonil aktif (aldehid atau keton) pada kondisi yang spesifik. Secara struktural, *basa Schiff* (dikenal juga sebagai imina atau azometin,  $-\text{C}=\text{N}-$ )(15). Senyawa ini secara luas digunakan untuk industri dan juga dilaporkan memiliki berbagai macam aktivitas antimikroba dengan spektrum yang luas terhadap bakteri dan jamur. Sudah banyak *basa Schiff* turunan kitosan yang disintesis diantaranya adalah kitosan-glutaraldehid[8], kitosan dengan p-klorobenzaldehid[14], kitosan-vanilin [15], semuanya menunjukkan aktivitas antimikroba lebih tinggi daripada kitosan sendiri. Demikian juga dengan hidrogel berbasis kitosan-dekstran yang terbentuk melalui ikatan *basa Schiff* ternyata efektif terhadap *S.aureus*, *S.pyogenes*, *E.coli*, dan *C.perfringens* dan aktivitasnya lebih kuat terhadap *S. aureus* dibandingkan *E. coli*. Ikatan *basa Schiff* yang terdapat pada senyawa ini telah terbukti berpengaruh terhadap aktivitas biologisnya[1].

Secara khusus pada bidang perawatan kesehatan, pengembangan hidrogel yang bersifat antimikroba untuk berbagai mikroorganisme patogen adalah sangat penting. Sehingga pada penelitian ini akan dilakukan pembuatan hidrogel *in situ* yang terjadi melalui pembentukan ikatan silang kimia (ikatan *basa Schiff*) antara maleoil kitosan (MKS) dengan dialdehid alginat (DAA) pada suhu kamar dengan berbagai rasio perbandingan, kemudian dilakukan karakterisasi dan evaluasi uji aktivitas antibakteri dari hidrogel yang terbentuk terhadap bakteri *E. Coli* dan *S.aureus* dalam pemanfaatannya lebih lanjut dalam bidang biomedis.

## 2. Metode

**Alat.** Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah; timbangan analitis (Metler Toledo), lumpang dan alu, hotplate/magnetic stirrer, magnetic bar, termometer, pH meter (Hanna), spektrofotometer (UV-1800 Shimadzu), autoclave, batang pengaduk, bunsen, cawan petri, jarum ose, jangka sorong, kapas, pipet mikro, lemari pendingin, incubator, oven vakum, spatula, vortex, dan alat-alat gelas lainnya

**Bahan.** Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah; kitosan, maleoil kitosan, dialdehid alginat, larutan buffer fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ ), asam asetat glasial, etanol, akuades, kertas pH universal, nutrient agar (NA), Mueller Hinton agar (MHA), etanol, biakan *Staphlococcus aureus*, biakan *Escherichia coli*. Semua bahan

kimia digunakan tanpa pemurnian lebih lanjut.

**Pembuatan hidrogel hibrid MKS-DAA.** Maleoil kitosan (MKS) telah dipersiapkan sebelumnya menurut prosedur yang dilakukan oleh Zhu, et al. In [22], Fan, et al. In [3], Mukhopadhyay, et al. in [10] dan dialdehid alginat (DAA) menurut prosedur Wang, et al. in [19], Subur, et al. in [12].

Hidrogel hibrid MKS-DAA dipersiapkan dengan mengadopsi prosedur yang telah dilakukan oleh Tan, et al. in [17], Yu, et al. in [20] sebagai berikut, hidrogel hibrid MKS-DAA dibuat dengan melarutkan masing-masing 20 mg/ml MKS dan DAA dengan proporsi yang berbeda dalam lima rasio (9:1, 7:3, 5:5, 3:7, 9:1) dengan total konsentrasi polimer yang digunakan masing-masing 10 ml dalam larutan buffer fosfat pH 7,4. Campuran larutan direaksikan di botol polietilen sebagai cetakan dengan pengadukan pada suhu kamar sampai terbentuk hidrogel. Hidrogel yang terbentuk dikarakterisasi dengan spektrofotometer FT-IR.

### 2.1. Pembuatan media.

**Pembuatan media Nutrient Agar.** Sebanyak 7 g nutrient agar dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan dilarutkan dengan 250 ml akuades, dipanaskan sampai semua larut dan mendidih, kemudian disterilkan dalam autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit.

**Pembuatan media agar miring dan stok kultur bakteri.** Ke dalam tabung reaksi yang steril dimasukkan 3 ml media NA steril, didiamkan pada suhu kamar sampai memadat pada posisi miring membentuk sudut 30 -45 °C. Biakan bakteri dari staim utama diambil dengan jarum ose steril lalu diinokulasi pada permukaan media NA miring dengan cara menggores, kemudian diinkubasi pada suhu 35 °C selama 18-24 jam.

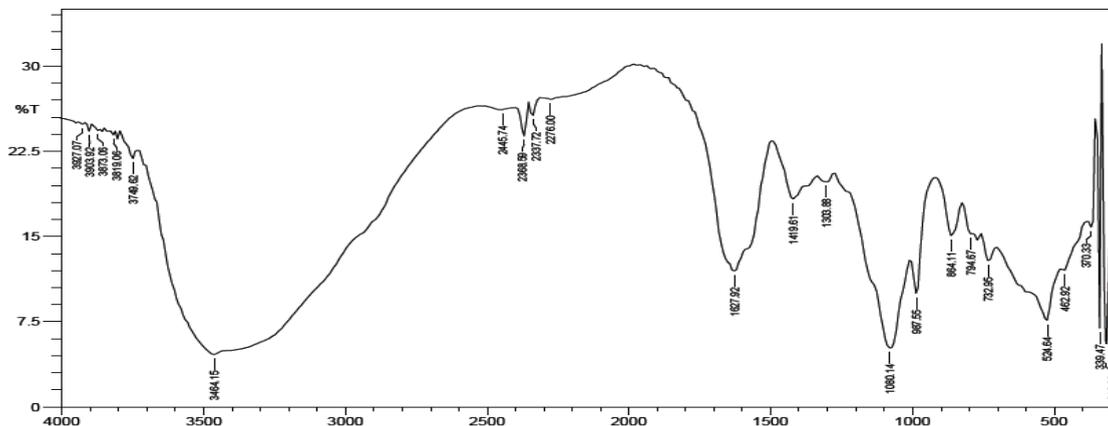
**Pembuatan media Mueller Hilton Agar (MHA).** Sebanyak 19 g serbuk Mueller Hinton Agar, dimasukkan dalam erlenmeyer lalu dilarutkan dengan 5000 ml akuades dan dipanaskan sehingga semua larut dan mendidih lalu disterilkan dalam autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit.

**Pembuatan inokulum bakteri.** Sebanyak 3,25 g nutrient broth dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 250 ml akuades, dipanaskan sampai semua larut dan mendidih, kemudian disterilkan dalam autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit dan didinginkan. Lalu koloni mikroba diambil dari stok kultur menggunakan jarum ose steril lalu disuspensikan ke dalam 10 ml media nutrient broth steril dalam tabung reaksi dan diinkubasikan pada suhu 35 °C selama 3 jam, lalu diukur panjang gelombang dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS panjang gelombang 580 – 600 nm.

**Penentuan aktivitas antibakteri.** Penentuan aktifitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumur, dimana dibuatkan sumur dengan diameter 6 mm pada media agar yang telah diinokulasi oleh *E.coli* dan *S.aureus*, lalu dimasukkan sampel yang akan diuji aktivitasnya ke dalam sumur dan diamati zona bening yang terbentuk setelah diinkubasi selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk menunjukkan daya hambat yang dihasilkan sampel uji terhadap *E.coli* dan *S.aureus* dan diukur dengan menggunakan jangka sorong (ketelitian mm)

## 3. Hasil dan Pembahasan

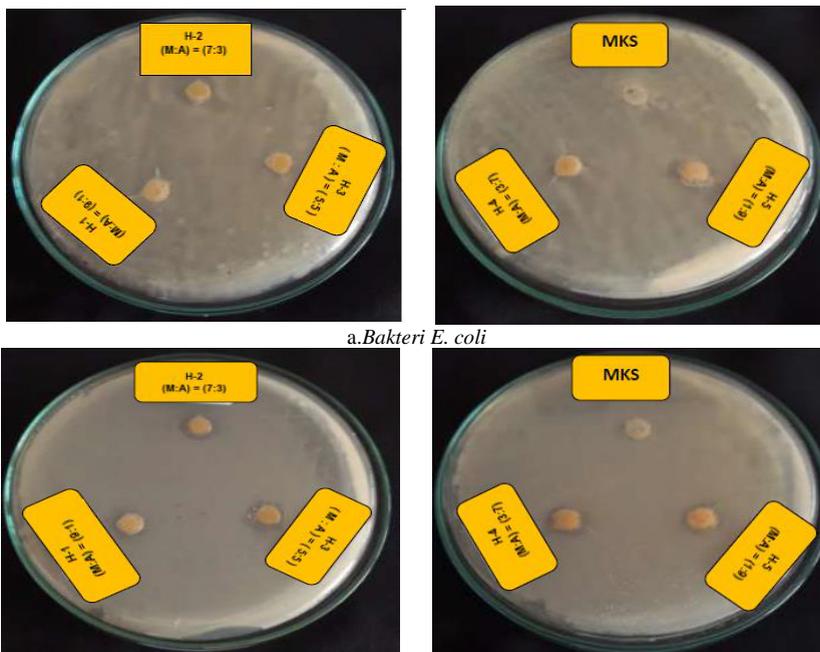
**Hidrogel hibrid MKS-ADA.** Hidrogel hibrid terbentuk secara *in situ* melalui pencampuran MKS dan DAA pada berbagai rasio perbandingan dengan pengadukan pada suhu kamar yang terjadi melalui pembentukan basa Schiff (gugus  $-C=N-$ ) sebagai hasil reaksi kondensasi dari gugus amina pada turunan kitosan (MKS) yang larut pada kondisi pH fisiologis dengan gugus karbonil aktif dari dialdehid alginat (DAA) yang didesain sebagai H1, (MKS:DAA= 9:1), H2(7:3), H3(5:5), H4(3:7) dan H5 (1:9). Terbentuknya hidrogel hibrid tersebut dikarakterisasi dengan spektrofotometer FT-IR seperti yang diperlihatkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Spektrum FT-IR hidrogel hibrid MKS-DAA dengan rasio perbandingan 5:5

Berdasarkan Spektrum FT-IR hidrogel hibrid MKS-DAA dengan rasio perbandingan 5:5 (H5) sebagai contoh (Gambar 1) diperoleh puncak karakteristik dari struktur hemiasetal pada  $864,11\text{ cm}^{-1}$  yang merupakan vibrasi stretching dari ikatan  $\text{-C=N-}$  yang menunjukkan bahwa telah terjadi reaksi kopling diantara gugus CHO pada DAA dan  $\text{NH}_2$  dari MKS, hal yang sama juga telah diverifikasi sebelumnya oleh Kamoun. in [6], Tan, et al. in [17], Yu, et. In [20] dan didukung dengan adanya puncak pada  $1627,92\text{ cm}^{-1}$  yang berhubungan dengan terbentuknya gugus  $\text{-C=N-}$  (*basa Schiff* atau imina) (20, 11, 8, 15), dimana *basa Schiff* ini merupakan pengikat silang antara MKS dan DAA dan sangat berperan dalam aktivitas antibakteri.

**Aktivitas antibakteri.** Hasil pengujian aktivitas antibakteri hidrogel hibrid MKS-DAA pada berbagai rasio perbandingan dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 1 berikut ini.



a. Bakteri *E. coli*

b. Bakteri *S. aureus*

Keterangan : H1 – H5 = Rasio perbandingan maleoil kitosan : dialdehid alginate (MKS : DAA)  
Gambar 2. Zona hambat hidrogel MKS-DAA terhadap bakteri a. *E. coli* dan b. *S. aureus*

Tabel 1. Aktivitas antibakteri hidrogel hibrid MKS-DAA (H1-H5) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Bakteri	Hidrogel	Diameter Zona Hambat (mm)
<i>Escherichia coli</i>	H1 (9:1)	-
	H2 (7:3)	-
	H3 (5:5)	6,18
	H4 (3:7)	8,15
	H5 (1:9)	6,80
<i>Staphylococcus auerus</i>	H1 (9:1)	8,00
	H2 (7:3)	10,10
	H3 (5:5)	10,08
	H4 (3:7)	8,15
	H5 (1:9)	7,00

Keterangan : H1 – H5 = Rasio Perbandingan Maleoil kitosan : Dialdehid alginat (MKS : DAA)  
 (-) = Tidak terdapat zona bening

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri dari hidrogel MKS-DAA seperti yang terdapat pada Gambar 2 dan Tabel 1, menunjukkan bahwa ada perbedaan pola aktivitas biologis terhadap kedua bakteri uji. Aktivitas terhadap *E.Coli* hanya perbandingan 5:5, 3:7, 1:9, yang memiliki aktivitas dengan diameter penghambatan masing-masing 6,18, 8,15 dan 6,80 (mm), sedangkan 9:1 dan 7:3 tidak memiliki aktivitas. Hal ini mengindikasikan bahwa dengan adanya kenaikan DAA pada perbandingan 5:5 sampai 3:7 (H3-H4) terjadi kenaikan aktivitas dan menurun kembali pada perbandingan 1:9 (H5) seiring dengan penurunan kandungan MKS-nya. Hal ini disebabkan bahwa pada perbandingan H3-H4 ikatan silang yang terbentuk (juga merupakan pembentukan basa Schiff, -C=N-) lebih banyak terjadi sehingga aktivitas antibakterinya meningkat dan menurun kembali seiring dengan penurunan kandungan MKS yang menyebabkan ikatannya juga berkurang. Sedangkan aktivitas antibakteri hidrogel hibrid terhadap bakteri *S.aureus* pada seluruh rasio perbandingan (H1-H5) menunjukkan adanya aktivitas, dan aktivitas terkuat pada perbandingan 7:3 dan 5:5 masing-masing sekitar 10,10 mm dan 10,08 mm, sedangkan yang paling lemah 1:9 (7mm). Terjadinya peningkatan kandungan DAA pada rasio perbandingan H1 ke H2 menyebabkan terjadinya peningkatan aktivitas dan menurun mulai dari H3 ke H5 seiring dengan penurunan kandungan MKS yang mengindikasikan bahwa perbandingan ini berpengaruh terhadap jumlah ikatan basa Schiff yang terbentuk dan tingkat kepadatan ikatan silang yang tentu saja mempengaruhi aktivitas antibakterinya. Penggabungan bagian pengikat silang hidrofilik ke molekul turunan kitosan memungkinkan sintesis hidrogel dengan hidrofilisitas yang lebih tinggi, dengan kemampuan membengkak lebih baik dalam media berair (pH fisiologis) dan pelarut organik, juga dengan densitas muatan positif yang lebih besar, dimana gugus C=O dan NH dalam hidrogel dapat terprotonasi dan akibatnya muatan positifnya diperkuat, sehingga menyebabkan aktivitas antimikrobanya lebih baik [9].

Dari keseluruhan sampel yang dilakukan uji aktivitasnya menunjukkan bahwa sifat antibakterinya lebih kuat terhadap bakteri *S.aureus* dibandingkan dengan *E.Coli*. Hal ini kemungkinan dapat dikaitkan dengan dinding sel bakteri yang berbeda. Dinding sel bakteri Gram positif tersusun dari lapisan peptidoglikan yang banyak pori-pori, sehingga memungkinkan molekul asing tanpa kesulitan masuk ke sel dan menyebabkan penyerapan ion lebih cepat, sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif terbentuk dari selaput tipis poliglukogen peptida dan membran luar yang terdiri dari lipopolisakarida, lipoprotein dan fosfolipid. Karena struktur selnya yang rumit, membran luarnya berpotensi menghalangi masuknya molekul asing [5,9].

Berdasarkan aktivitas antibakterinya maka rasio perbandingan pembentukan hidrogel yang paling baik digunakan adalah 5:5 karena memiliki aktivitas terhadap kedua bakteri sehingga dapat dimanfaatkan lebih lanjut dalam bidang biomedis.

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa;

1. Hidrogel hibrid maleoil kitosan-dialdehid alginat (MKS-DAA) telah berhasil disintesa pada berbagai rasio perbandingan MKS dan DAA.

2. Aktivitas antibakteri hidrogel akan meningkat seiring dengan peningkatan jumlah DAA tetapi menurun kembali seiring dengan penurunan MKS dan hidrogel yang terbentuk dengan rasio perbandingan 5:5 sangat potensial digunakan sebagai hidrogel yang bersifat antibakteri untuk aplikasi biomedis.

### Ucapan Terima Kasih

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Menteri Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi d/a. Dirjen DIKTI yang telah memberikan beasiswa pada Program Doktor Ilmu Kimia di Universitas Sumatera Utara, Medan melalui program BPPDN.

### Referensi

- [1] Aziz, M.A., Cabral, J.D., Brooks, H.J.L., Moratti, S.C., Hantona, L.R., 2011. Antimicrobial properties of a chitosan dextran-based hydrogel for surgical use. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 280–287.
- [2] Eldin, M.S.M., Soliman, E.A., Hashem, A.I., Tame, T.M., 2008. Antibacterial Activity of Chitosan Chemically Modified with New Technique. *Trends Biomater. Artif. Organs*, 22(3):125-137.
- [3] Fan, J., Chen, J., Yang, L., Lin, H., Cao, F., 2009. Preparation of dual-sensitive graft copolymer hydrogel based on N-maleoyl-chitosan and poly(N-isopropylacrylamide) by electron beam radiation. *Bull. Mater. Sci.*, 32(5):521–526.
- [4] Fan, L.H., Pan, X.R., Zhou, Y., Chen, L.Y., Xie, W.G., Long, Z.H., Zheng, H., 2010. Preparation and characterization of crosslinked carboxymethyl chitosan–oxidized sodium alginate hydrogels. *J. App. Poly. Sci.*, 22: 2331–2337.
- [5] Hu, D., Wang, H., & Wang, L., 2016. Physical properties and antibacterial activity of quaternized chitosan/carboxymethyl cellulose blend films. *LWT - Food Sci. and Tech.*, 65:398-405.
- [6] Kamoun, E.A., 2016. N-succinyl chitosan–dialdehyde starch hybrid hydrogels for biomedical applications. *J. Adv. Res.*, 7: 69–77.
- [7] Kong, M., Chen, X.Y., Xing, K., Park, H.J., 2010. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *Inter. J. Food Microbiol.*, 144: 51–63.
- [8] Li, B., Shan, C.L., Zhou, Q., Fang, Y., Wang, Y.L., Xu, F., Han, L.R., Ibrahim, M., Guo, L.B., Xie, G.L., Sun, G.C., 2013. Synthesis, characterization, and antibacterial activity of cross-linked chitosan–glutaraldehyde. *Mar. Drugs*, 11: 1534-1552.
- [9] Mohamed, N.A., & Fahmy, M.M., 2012., Synthesis and antimicrobial activity of some novel cross-linked chitosan hydrogels. *Int. J. Mol. Sci.*, 13: 11194-11209.
- [10] Mukhopadhyay, P., Sarkar, K., Bhattacharya, S., Bhattacharya, A., Mishra, R., Kundu, P.P., 2014. pH Sensitive N-Succinyl Chitosan Grafted Polyacrylamide Hydrogel for Oral Insulin Delivery. *Carbohydr. Polym.*, 112 :627– 637.
- [11] Nair, S., Remya, N.S., Remya, S., Nair, P.D., 2011. A biodegradable in situ injectable hydrogel based on chitosan and oxidized hyaluronic acid for tissue engineering applications. *Carbohydr. Polym.*, 85 :838–844.
- [12] Pasaribu, S.P., Kaban, J., Ginting, M., Sinaga, K.R., 2017. Sintesis dialdehid alginat melalui reaksi oksidasi natrium alginat dengan natrium periodat. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 14(2):134-138.
- [13] Sahariah, P., & Måsson, M., 2017. Antimicrobial chitosan and chitosan Derivatives: A review of the structure-activity relationship. *Biomacromol.*, 1-65.
- [14] Sashikala, S., & Shafi, S.S., 2015. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of chitosan 4-chlorobenzaldehyde Schiff base. *Res. J. Chem. Sci.*, 5(9): 27-33.
- [15] Sashikala, S., & Shafi, S.S., 2017. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of chitosan vanillin Schiff base. *Int. J. Nov. Tren. Phar. Sci.*, 7(3):86-92.
- [16] Sun, J., & Tan, H., 2013. Alginate-based biomaterials for regenerative medicine applications. *Materials*, 6(4): 1285–1309.
- [17] Tan, H., Chu, C.R., Payne, K., Marra, K.G., 2009. Injectable in situ forming biodegradable chitosan-hyaluronic acid based hydrogels for cartilage tissue engineering. *Biomaterial*, 30(13):2499–2506.
- [18] Wang, C.H., Liu, W.S., Sun, J.F., Hou, G.G., Chen, Q., Cong, W., Zhao, F., 2016. Non-toxic O-quaternized chitosan materials with better watersolubility and antimicrobial function. *Inter. J. Biol. Macromol.*, 84:418–427.
- [19] Wang, J., Fu, W., Zhang, D., Yu, X., Li, J., Wan, C., 2010. Evaluation of novel alginate dialdehyde cross-Linked chitosan/calcium polyphosphate composite scaffold for meniscus tissue engineering. *Carbohydr. Polym.*, 79:705– 710.
- [20] Yu, H., Lu, J., & Xiao, C., 2007. Preparation and properties of novel hydrogels from oxidized konjac glucomannan cross-linked chitosan for in vitro drug delivery. *Macromol. Biosci.*, 7: 1100–1111.
- [21] Zhou, H.Y., Cao, P.P., Li, J.B., Zhang, F.L., Ding, P.P., 2015. Preparation and release kinetics of carboxymethyl chitosan/cellulose acetate microspheres as drug delivery system. *J. Appl. Polym. Sci.*, 132: 42152-42162.
- [22] Zhu, A., Lu, Y., Pan, Y., Dai, S., Wu, H., 2010. Self-assembly of N-maleoylchitosan in aqueous media. *J. Col. Sur. B: Biointer.*, 76:221– 225