



**LAPORAN AKHIR  
PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA PENELITIAN (PKM-P)**

***BIO MOUTH SPRAY ANTI HALITOSIS (BAU MULUT) BERBASIS FINE  
PARTICEL CHITOSAN LOBSTER “SEGAR SEPANJANG HARI”***

oleh:

Annisa Ulfa Safitri	C34110049 (2011)
Azah Fajriah	C34110035 (2011)
Ayu Astriandari	C34110043 (2011)
I Wayan Darya Kartika	C34110077 (2009)

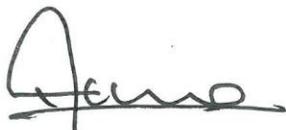
**INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2014**

### PENGESAHAN PKM-P

1. Judul Kegiatan : *Bio Mouth Spray* Anti Halitosis (Bau Mulut) Berbasis *Fine Particel Chitosan* Lobster “Segar Sepanjang Hari”
2. Bidang Kegiatan : PKM-P
3. Ketua Pelaksana Kegiatan
  - a. Nama Lengkap : Annisa Ulfa Safitri
  - b. NIM : C34110049
  - c. Jurusan : Teknologi Hasil Perairan
  - d. Universitas : Institut Pertanian Bogor
  - e. Alamat rumah dan No.Hp: Bumi Menteng Asri Jl. Terapi 2 Blok BN 3 dan 085782984296
  - f. Alamat email : annisaulfas@yahoo.com
4. Anggota pelaksana kegiatan : 4 orang
5. Dosen pendamping
  - a. Nama lengkap dan gelar : Dr. Dra. Pipih Suptijah, MBA.
  - b. NIDN : 0020105302
  - c. Alamat rumah dan No.Hp: Jl. Raya Sindang Barang km.5 Kavling 2RT 01/01 Bogor dan 0251-8622915
6. Biaya Kegiatan Total :
  - a. DIKTI : RP. 10.500.000
  - b. Sumber lain : -
7. Jangka waktu pelaksanaan : 4 bulan

Bogor, 11 April 2014

Menyetujui  
Ketua Departemen



Dr. Ir. Joko Santoso, M.Si.  
NIP. 19670922 199203 1 003

Wakil Rektor Bidang Akademik dan  
Kemahasiswaan IPB



Prof. Dr. Ir. Yonny Koesmaryono, MS  
NIP. 19581228 198503 1 003

Ketua Pelaksana Kegiatan



Annisa Ulfa Safitri  
NIM. C34110049

Dosen Pendamping



Dr. Dra. Pipih Suptijah, MBA.  
NIP. 19531020 198503 2 001

## ABSTRAK

Masalah halitosis (bau mulut) adalah masalah yang cukup serius bagi sebagian orang yang aroma mulutnya sangat tajam menusuk hidung orang-orang yang berada di sekitarnya. Obat kumur sering digunakan untuk mengurangi masalah bau mulut, khususnya bagi individu dengan higiena oral yang buruk. Pada umumnya obat kumur mengandung 5-25% alkohol. Kandungan alkohol dalam obat kumur ini menyebabkan individu-individu tertentu tidak dapat menggunakan obat kumur yang mengandung alkohol, seperti anak-anak, ibu hamil/menyusui, pecandu alkohol, pasien-pasien yang menggunakan metronidazole, pasien dengan xerostomia, dan penganut keyakinan religius tertentu, kandungan alkohol yang terdapat dalam obat kumur juga dapat meningkatkan risiko kanker rongga mulut, terutama bila digunakan pada pemakaian reguler. Penelitian akan menjadikan alternatif yang diharapkan untuk mengatasi masalah penggunaan zat-zat berbahaya dalam obat kumur adalah membuat formula baru yang dapat mencegah terjadinya halitosis (bau mulut) yang berbahan dasar alami berupa *fine particel chitosan* yang terbuat dari cangkang lobster berupa *mouth spray*.

*Fine particel chitosan* yang dihasilkan berfungsi sebagai antibakteri untuk mencegah terjadinya aktifitas bakteri penyebab bau mulut yang digunakan dalam pembuatan *mouth spray*. *Mouth spray* merupakan salah satu alternatif yang efisien dan praktis digunakan untuk mencegah terjadinya bau mulut dan memberikan kesegaran sepanjang hari. Hasil yang diperoleh melalui penelitian ini yaitu analisis uji proksimat cangkang lobster diperoleh nilai kadar air, kadar protein, kadar lemak, kadar abu dan karbohidrat by difference secara berturut-turut sebesar 8,18%; 17,02%; 0,20%; 52,69% dan 21,91%. Analisis kualitas kitosan lobster menggunakan FTIR menunjukkan nilai % DD sebesar 82%, pengujian PSA untuk mengetahui ukuran nano kitosan lobster menunjukkan nilai sebesar 357,76nm. Perlakuan *mouthspray* terbaik terdapat pada nano kitosan lobster murni dengan perhitungan jumlah koloni sebesar  $6,9 \times 10^4$ , sedangkan perlakuan kedua terbaik yaitu ada pada larutan nano chitosan lobster dengan perbandingan air:nano chitosan sebesar 50:50 dengan jumlah koloni sebesar  $2,21 \times 10^5$ .

Kata kunci : halitosis, *mouthspray*, chitosan lobster

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Laporan Akhir Penelitian yang berjudul “Bio Mouth Spray Anti Halitosis (Bau Mulut) Berbasis *Fine Particle Chitosan* Lobster “Segar Sepanjang Hari”” sebagai salah satu capaian pelaksanaan akhir dari Program Kreativitas Mahasiswa untuk menuju PIMNAS. Laporan ini berisikan empat topik yaitu mouthspray, *nano particle chitosan*, halitosis dan antibakteri. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing Ibu Dr. Dra. Pipih Suptijah, MBA., teman-teman mahasiswa serta semua pihak yang telah membantu terselesaikannya kegiatan PKM-P ini. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan laporan ini, masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu mohon kritik dan sarannya.

Bogor, 25 Juli 2014

Penulis

## PENDAHULUAN

### Latar Belakang Masalah

Makan merupakan kegiatan rutinitas yang pasti dilakukan oleh setiap orang, salah satu organ tubuh yang bekerja secara mekanik dan membantu dalam proses mencerna makanan adalah mulut. Mulut merupakan organ penting yang harus dijaga kebersihannya, dikarenakan kebersihan mulut yang kurang baik akan menyebabkan terjadinya gigi berlubang, infeksi gusi, xerostomia dan halitosis (bau mulut). Halitosis (bau mulut) merupakan permasalahan yang paling sering ditemui pada setiap orang. Bau mulut dapat menimbulkan rasa tidak percaya diri dan malu saat berbicara dengan orang lain, apalagi jika seseorang sampai dijauhi hanya karena bau mulut yang tidak sedap.

Halitosis (bau mulut) dapat disebabkan karena adanya volatile sulfur compounds (VSCs). Volatile sulfur compounds adalah hasil produksi dari aktifitas bakteri anaerob di dalam mulut yang menghasilkan senyawa berupa sulfur yang mudah menguap dan berbau tidak enak. Proses terjadinya VSCs adalah diawali dengan pemecahan substrat protein dari sisa makanan oleh bakteri gram negatif yang bersifat proteolitik menjadi rantai peptida dan asam amino seperti *methionin*, *cysteine* dan *cystine*. Kemudian asam amino tersebut akan direduksi menjadi methyl mercaptan, hidrogen sulfida dan dimethyl sulfida (Herawati 2003).

Selama ini pencegahan halitosis (bau mulut) hanya dicegah dengan menggosok gigi secara rutin setiap hari dan penggunaan obat kumur sebagai salah satu alternatif yang digunakan untuk menghilangkan plak dan bau mulut. Obat kumur merupakan larutan atau cairan yang digunakan untuk membilas rongga mulut dengan sejumlah tujuan antara lain untuk menyingkirkan bakteri perusak, bekerja sebagai penciut, untuk menghilangkan bau tak sedap, mempunyai efek terapi dan menghilangkan infeksi atau mencegah karies gigi. Pada umumnya obat kumur mengandung 5-25% alkohol. Alkohol dimasukkan dalam obat kumur untuk beberapa kegunaan, antara lain sebagai antiseptik, menstabilkan ramuan-ramuan aktif dalam obat kumur, memperpanjang masa simpan dari obat kumur, mencegah pencemaran dari mikroorganisme, dan melarutkan bahan-bahan pemberi rasa. Namun demikian, menurut Herawati (2005), kandungan alkohol dalam obat kumur ini menyebabkan individu-individu tertentu tidak dapat menggunakan obat kumur yang mengandung alkohol, seperti anak-anak, ibu hamil/menyusui, pecandu alkohol, pasien-pasien yang menggunakan metronidazole, pasien dengan xerostomia, dan penganut keyakinan religius tertentu.

Wynder (1983), menyatakan bahwa kandungan alkohol yang terdapat dalam obat kumur juga dapat meningkatkan risiko kanker rongga mulut dan kerongkongan, terutama bila digunakan pada pemakaian reguler. Oleh karena itu dibuatlah formula baru yang dapat mencegah terjadinya halitosis (bau mulut) yang berbahan dasar alami berupa *fined particel chitosan* yang terbuat dari cangkang lobster berupa *mouth spray*. Penggunaan cangkang lobster dimaksudkan agar limbah hasil perairan tersebut

dapat dimanfaatkan secara maksimal dan efektif digunakan sebagai bahan baku pembuatan suatu produk yang memberikan nilai ekonomis.

*Mouthspray* adalah suatu produk kesehatan yang biasanya digunakan sebagai penyegar nafas dengan cara menyemprotkan cairan yang mengandung penyegar tersebut ke dalam mulut. Penggunaan *mouth spray* merupakan cara yang praktis dan efisien digunakan pada rutinitas keseharian yang padat. Kandungan yang terdapat dalam *mouth spray* ini berupa *fine partikel chitosan* yang reaktif menginaktifkan bakteri penyebab halitosis (bau mulut).

### **Perumusan Masalah**

Perumusan masalah yang menjadi dasar penelitian ini adalah banyaknya permasalahan bau mulut yang hampir setiap orang pernah merasakannya, dampak negatif yang ditimbulkan dari halitosis (bau mulut) dapat mengakibatkan rasa kurang percaya diri dalam berkomunikasi, cangkang lobster sebagai limbah perairan masih belum dimanfaatkan dengan baik, belum ada formulasi berbahan dasar *fine partikel chitosan* yang baik digunakan sebagai *mouth spray* anti bakteri pencegah halitosis (bau mulut), belum ada produk yang menjual *mouth spray* dengan bahan dasar yang jelas, alami dan aman digunakan untuk konsumen.

### **Tujuan Program**

Tujuan dilakukannya penelitian ini terdiri atas tujuan umum dan tujuan khusus. Tujuan umum penelitian ini adalah menciptakan suatu produk pencegah halitosis (bau mulut) yang aman dan alami dengan memanfaatkan limbah perikanan berupa cangkang lobster yang masih belum dimanfaatkan secara maksimal. Tujuan khusus penelitian ini adalah menjadikan *fine partikel chitosan* dari cangkang lobster sebagai antibakteri pencegah halitosis dalam pembuatan *mouth spray* yang efektif & efisien.

### **Luaran yang Diharapkan**

Luaran yang diharapkan dari penelitian ini adalah terciptanya produk *mouth spray* yang efektif dan efisien digunakan untuk mencegah halitosis (bau mulut) yang bernilai ekonomis dengan memanfaatkan limbah cangkang lobster sebagai bahan baku utama pembuatan *mouth spray*. Dengan demikian optimalisasi produksi *mouth spray* nantinya dapat dipatenkan, dikembangkan dalam skala besar di industri dan kedokteran gigi Indonesia.

### **Kegunaan Program**

Kegunaan dari penelitian ini adalah mendukung kesehatan mulut dengan mengatasi permasalahan yang timbul akibat halitosis (bau mulut), menciptakan produk aman dan alami yang digunakan sebagai *mouth spray* anti bakteri pencegah halitosis (bau mulut) dan menjadikan limbah perikanan berupa cangkang lobster agar dimanfaatkan dengan baik serta bernilai ekonomis.

## TINJAUAN PUSTAKA

### **Chitosan**

*Chitosan* adalah produk alami turunan dari kitin, polisakarida yang ditemukan dalam eksoskeleton krustacea misalnya udang, lobster, rajungan, dan kepiting. *Chitosan* merupakan jenis polimer alam yang mempunyai rantai tidak linier dan mempunyai rumus  $(C_6H_{11}NO_4)_n$ . *Chitosan* memiliki sifat tidak berbau, berwarna putih dan terdiri dari dua jenis polimer yaitu poli (2-deoksi,2-asetilamin,2-glukosa) dan poli (2-deoksi,2- amino glukosa) yang berikatan secara beta (1,4) (Sugita *et al.* 2010).

*Chitosan* juga bersifat *antacid* (menyerap zat racun), mencegah plak dan kerusakan gigi, membantu mengontrol tekanan darah, membantu menjaga pengkayaan kalsium (Ca) atau memperkuat tulang, dan bersifat anti tumor (Shahidi *et al.* 1999). *Chitosan* memiliki gugus fungsional amina ( $-NH_2$ ) yang bermuatan positif yang sangat reaktif, sehingga mampu berikatan dengan dinding sel bakteri yang bermuatan negatif. Selain itu, *chitosan* memiliki struktur yang menyerupai dengan peptidoglikan yang merupakan struktur penyusun 90% dinding sel bakteri gram positif (Ermawati *et al.* 2009). Bakteri gram positif merupakan jenis bakteri yang mengawali terjadinya kolonisasi pada plak gigi. Bakteri ini, seperti *Actinomyces viscosus* dan *Streptococcus sanguis* melekat melalui adhesin, yakni molekul spesifik yang terdapat pada permukaan sel bakteri (Litsgarten 2000).

Bakteri gram positif akan memanfaatkan oksigen dan mengurangi jumlah oksigen secara signifikan pada wilayah tersebut sehingga terjadi transisi kolonisasi menjadi bakteri gram negatif yang bersifat anaerob atau mikroaerofilik karena strukturnya yang serupa, *chitosan* dapat menjadi kompetitor potensial bagi bakteri gram positif untuk dapat melekat di permukaan gigi. Oleh sebab itu beberapa penelitian dilakukan dengan memanfaatkan sifat fungsional *chitosan* menjadi bentuk sediaan aplikatif untuk menghambat bakteri gigi dan mulut berupa zat antibakteri dalam obat kumur.

### **Fine Particel Chitosan**

*Fine Particel Chitosan* atau *nano chitosan* yaitu *chitosan* yang memiliki partikel yang berbentuk padat dengan ukuran sekitar 10 – 1000 nm. *Chitosan* dalam bentuk nanopartikel ini pun bersifat netral, tidak toksik, dan memiliki stabilitas yang konstan. Nanopartikel ini digunakan dalam berbagai rute (aplikasi parental, mucosal misal oral, nasal, dan ocular mucosa) yang sangat tidak invasive. Dalam sistem pengantaran obat, nanopartikel berperan sebagai pembawa (carrier) dengan cara melarutkan, menjebak, mengenkapsulasi, atau menempelkan obat di dalam matriksnya. Baru-baru ini, nanopartikel yang berasal dari bahan polimer digunakan sebagai sistem pengantaran obat yang potensial karena kemampuan penyebarannya di dalam organ tubuh selama waktu tertentu, dan kemampuannya untuk mengantarkan protein atau peptida (Mohanraj dan Chen 2006).

## **Lobster**

Lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*) termasuk ke dalam keluarga Parastacidae. *Cherax quadricarinatus* dikenal dengan nama dagang *red claw*, disebut demikian karena pada kedua ujung capitnya terdapat warna merah. Selain sebagai lobster konsumsi, *red claw* juga cocok dijadikan lobster hias karena memiliki keunggulan pada bentuk dan warna tubuhnya. Warna biru mengkilap terpancar dari tubuhnya (Hartono dan Wijayanto 2006). Fetzner (2008) mengklasifikasikan lobster air tawar sebagai berikut:

Filum : Arthropoda  
Sub Filum : Mandibulata  
Kelas : Crustacea  
Ordo : Malacostraca  
Sub Ordo : Decapoda  
Superfamili : Astacidae  
Famili : Parastacidae  
Genus : *Cherax*  
Spesies : *Cherax quadricarinatus* (von Martens)

## **Jenis-Jenis Bakteri Mulut dan Gigi**

Berbagai ruang dan permukaan di dalam mulut mengandung banyak flora mikroba (Suryo 1993). Mikroorganisme yang hidup pada permukaan mulut antara lain *Streptococcus salivarius*, *S. mitis*, *S. sanguis*, *S. mutans*, *Veillonella*, dan *Bakteroides gingivalis* (Suryo 1993). *Streptococcus mutans* adalah bakteri gram positif (Ryan dan Ray 2004), bersifat asidogenik dan asidodurik (Nugraha 2008), yang merupakan kontributor signifikan kerusakan pada gigi. *S. mutans* dan *Lactobacillus* merupakan kuman yang kariogenik karena mampu dengan segera membentuk asam dari karbohidrat yang difermentasi. *S. mutans* merupakan bakteri patogen pada mulut karena menjadi penyebab utama terbentuknya plak, gingivitis, dan karies gigi (Lee *et al.*, 1992). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab intoksikasi dan terjadinya berbagai macam infeksi (Supardi dan Sukamto 1999). *S. Moorei* merupakan salah satu bakteri penyebab bau mulut.

## **METODE PENDEKATAN**

### **Bahan dan Alat**

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah cangkang lobster yang diperoleh dari penjual ikan di daerah Muara Angke, Jakarta Utara. Bahan yang digunakan untuk proses pembuatan *chitosan* lobster dari cangkang lobster adalah cangkang lobster, HCl 1N, Akuades, NaOH, asam asetat (CH<sub>3</sub>COOH) dan CaCO<sub>3</sub>.

Bahan yang digunakan untuk pembuatan nano chitosan lobster adalah TPP 0,1%, Twin 80, aquades, *chitosan* lobster dan asam asetat. Bahan yang digunakan untuk pembuatan mouthspray adalah nano *chitosan* lobster, aquades, karagenan, flavour mint. Bahan yang digunakan untuk analisis proksimat adalah cangkang lobster, akuades, selenium, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaOH, HCl, asam borat (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>), kertas saring, kapas, pelarut heksana, KI, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, dan HCl. Bahan yang digunakan untuk analisis TPC adalah *Natrium Agar* (NA), garam fisiologis, air kumur probandus, alkohol dan aquades. Bahan yang digunakan untuk analisis pH adalah kertas pH meter.

Alat yang digunakan untuk preparasi cangkang lobster adalah pisau, talenan, wadah, timbangan digital, trash bag, dan aluminium foil. Alat yang digunakan untuk pembuatan *chitosan* lobster adalah *beakerglass* 2L, batang pengaduk, oven, kompor listrik dan saringan. Alat yang digunakan untuk pembuatan nano *chitosan* lobster adalah pipet tetes, spray, *beakerglass* 2L dan 100ml, timbangan digital, sudip, magnetic stirrer, magnet pengaduk dan batang pengaduk. Alat yang digunakan untuk pembuatan mouthspray adalah botol sprayer dan kertas label. Alat yang digunakan untuk analisis proksimat adalah erlenmeyer, timbangan analitik, beaker glass, cawan porselen, oven, sudip, tabung reaksi, desikator, tabung Kjeldahl, destilator, biuret, tabung sokhlet, pemanas, tanur dan desikator. Alat yang digunakan untuk analisis TPC adalah cawan petri, inkubator, autoklaf, tabung reaksi, spirtus, timbangan analitik dan *beakerglass*. Pengujian ukuran partikel dilakukan dengan menggunakan alat PSA. Pengujian iradiasi botol dilakukan dengan menggunakan alat iradiasi. Pengujian FTIR dilakukan dengan menggunakan alat FTIR.

## **Metode Penelitian**

Metode penelitian ini dilakukan menjadi dua bagian yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan diawali dengan penentuan bahan baku sampai penentuan perlakuan terbaik dalam formulasi mouthspray dari nano *chitosan* lobster. Penelitian utama dilakukan dengan pembuatan chitosan lobster, pengecilan ukuran chitosan menjadi nano dan pengujian TPC untuk mengetahui aktivitas nano *chitosan* lobster dalam menghambat bakteri di mulut.

## **Preparasi Bahan Baku**

Sampel ikan lobster dicuci terlebih dahulu untuk menghilangkan kotoran yang menempel, kemudian dilakukan preparasi pemisahan daging dengan cangkang. Cangkang lobster yang terkumpul kemudian di cuci kembali dan ditimbang bobotnya.

## **Pembuatan *Chitosan* dari Cangkang Lobster**

Penelitian utama dilakukan untuk mengekstraksi kitin dari cangkang lobster melalui proses demineralisasi menggunakan asam klorida (HCl) dan deproteinasi menggunakan natrium hidroksida (NaOH) dengan pemanasan tinggi. Rendemen hasil

proses demineralisasi sebesar 60%. Pada proses demineralisasi, senyawa kalsium akan bereaksi dengan asam klorida yang larut dalam air (Bastaman 1989).

### **Uji Proksimat**

Pengujian proksimat dilakukan untuk melihat kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, kadar serat dan kadar karbohidrat pada chitosan yang dihasilkan (AOAC 2005). Pengujian proksimat dilakukan 2 kali yaitu pada cangkang lobster dan *chitosan*.

### **Pembuatan Nano Chitosan (Knorr 1990)**

Pembuatan *fine partikel chitosan* dengan menggunakan *chitosan* yang termodifikasi menggunakan emulsifier yang merupakan senyawa pengikat silang dan surfaktan. Surfaktan yang banyak digunakan adalah surfaktan nonionik Tween 80. Penambahan surfaktan dapat memperkecil ukuran partikel kitosan (Silvia *et al.* 2005).

Pembuatan nano *chitosan* dilakukan dengan melarutkan *chitosan* dengan asam asetat 1% hingga mengental, penambahan aquades hingga 1L, penambahan twin 80 sebanyak 4 semprot, penambahan larutan TPP 0,1% dan dilakukan *sizing* selama 4 jam dengan magnetic stirrer pada kecepatan  $\pm 3000$  rpm.

### **Uji Irradiasi Botol Spray**

Uji Irradiasi menurut Maha (1985) merupakan suatu teknik yang digunakan untuk pemakaian energi radiasi secara sengaja dan terarah. Menurut Winarno (1980) juga menyatakan bahwa iradiasi merupakan teknik penggunaan energi untuk penyinaran bahan dengan menggunakan sumber iradiasi buatan.

### **Analisis FTIR (Fourier Transform InfraRed) (modifikasi Muyonga et al. 2004)**

Analisis FTIR (Fourier Transform InfraRed) dilakukan untuk mengetahui gugus fungsi serta keberadaan *chitosan* nanopartikel yang dihasilkan. Sampel *chitosan* sebanyak 0,2 gram dihaluskan dengan KBr dalam mortar hingga homogen, kemudian dimasukkan ke dalam cetakan pellet dan dipadatkan serta divakum dalam mesin pencetak pellet. Selanjutnya pellet dimasukkan ke dalam sel dan dimasukkan pada media penempatan sel dengan ditembakkan sinar dari spektrofotometer inframerah IR-408 yang sudah dinyalakan dengan kondisi yang stabil, kemudian dilakukan pendeteksian menggunakan tombol detektor dan akan dihasilkan rekorder histogram FTIR pada monitor yang akan menampilkan puncak-puncak dari gugus fungsi yang terdapat pada sampel. Histogram yang diperoleh selanjutnya akan dianalisis untuk memperoleh data kualitatif maupun kuantitatif.

### **Analisis SEM (Poole dan Owens 2003)**

*Scanning Electron Microscope* (SEM) digunakan dalam pengamatan morfologi dan penentuan ukuran *fine particel chitosan*. Metode ini merupakan cara yang efisien dalam memperoleh gambar permukaan spesimen (Poole dan Owens 2003).

### **Analisis PSA**

Pengukuran partikel dan sebaran pada nano *chitosan* dilakukan dengan menggunakan alat PSA (Particle Size Analyzing) Vasco-Particle Size Analyzer 2010. Sampel diambil secara acak sebanyak 1-2 mL, kemudian diteteskan pada lensa identifikasi kemudian ditembakkan sinar laser gelombang nano dan menghasilkan grafik sebaran yang akan secara otomatis terekam pada layar monitor yang selanjutnya akan menampilkan sejumlah data dan informasi dari ukuran dan sebaran sampel.

### **Pembuatan Formulasi *mouth spray***

Pembuatan formulasi *mouth spray* dilakukan dengan membuat 3 jenis formulasi yaitu menggunakan perbandingan komposisi *fine particel chitosan* dengan air yaitu 50:100; 50:50 dan nano *chitosan* tanpa penambahan air (murni).

### **Pengujian TPC**

Pengujian TPC pada sampel digunakan untuk melihat formulasi *mouth spray* terbaik yang dihasilkan dari perbandingan *fine particel chitosan* yang dihasilkan. Pengujian TPC pada probandus digunakan untuk melihat efektifitas kerja anti bakteri yang terdapat pada *mouth spray* dengan menggunakan 1 orang probandus untuk mengambil sampel air kumur.

## **PELAKSANAAN PROGRAM**

### **Waktu dan Tempat**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2014 sampai Juni 2014. Bertempat di Laboratorium Preservasi dan Pengolahan Hasil Perairan, Laboratorium Biokimia Hasil Perairan, Laboratorium Organoleptik, Laboratorium Mikrobiologi Hasil Perairan, dan Laboratorium Bioteknologi 2 Hasil Perairan, Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.

## Tahapan Pelaksanaan

Tahapan pelaksanaan kegiatan PMP-P dilakukan selama lima bulan, dengan rincian kegiatan yaitu, satu bulan persiapan, tiga bulan pelaksanaan penelitian dan satu bulan laporan akhir. Tahapan pelaksanaan kegiatan ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Tahapan pelaksanaan kegiatan PKM-P

Penanggung Jawab	Kegiatan	Bulan ke-																			
		I				II				III				IV				v			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Tim	Studi Literatur	■	■	■																	
Tim	Penyediaan bahan dan alat	■	■	■	■																
Ulfa	Preparasi lobster				■	■															
Azah	Pembuatan <i>chitosan</i> lobster					■	■														
Ulfa	Analisis proksimat							■	■												
Ulfa	Analisis FTIR									■	■	■									
Ayu	Uji iradiasi botol spray											■	■								
Darya	Pembuatan nano <i>chitosan</i> lobster													■	■	■					
Darya	Analisis PSA																■	■	■	■	
Azah	Formulasi mouthspray																■	■	■	■	
Ayu	Analisis TPC																■	■	■	■	
Ulfa	Penentuan mouthspray terbaik																■	■	■	■	
Tim	Penyusunan laporan akhir																■	■	■	■	

## Realisasi Biaya

Realisasi biaya yang digunakan dalam program PKM-P ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Realisasi biaya dalam pelaksanaan PKM-P

No	Tanggal	Transaksi	Kuantitas	Harga Satuan (Rp)	Jumlah (Rp)
1	20/02/2014	Sewa Laboratorium	3 tempat	150.000	450.000
2	20/02/2014	Aquadest	40 liter	65.000	130.000
3	20/02/2014	Beaker glass 800ml	2 buah	80.000	160.000
4	20/02/2014	Erlenmeyer 500ml	4 buah	70.000	280.000
5	20/02/2014	Beaker glass 1L	2 buah	100.000	200.000
6	20/02/2014	Kertas pH	1 pack	-	214.000
7	20/02/2014	Kertas lakmus red-blue	1 pack	-	35.000
8	20/02/2014	Transportasi Tim PKM	4 orang	25.000	100.000
9	22/02/2014	HCL teknis	20 L	-	150.000
10	01/03/2014	Lobster air laut	3 kg	-	400.000
11	01/03/2014	Transportasi Tim PKM	4 orang	40000	160000
12	08/03/2014	Erlenmeyer 500ml	1 buah	70.000	70.000
13	08/03/2014	Sapu tangan karet	1 pack	-	50.000
14	08/03/2014	Spatula kaca	2 buah	10.000	20.000
15	08/03/2014	Bensin motor	1 motor	20000	20000
16	12/03/2014	Uji Proksimat	1 sampel	110.000	110.000
17	22/03/2014	Kertas kuarto	6 buah	-	32.400
18	07/04/2014	Toshiba 16 GB	1 buah	105.000	105.000
19	16/04/2014	Aqua Galon	2 galon	15.000	30.000
20	16/04/2014	Bayar Tukang Angkat Galon	1 orang	20.000	20.000
21	16/04/2014	Folder nota	1 buah	17.000	17.000
22	20/04/2014	NaOH pekat	2 kg	35.000	70.000
23	20/04/2014	Asam asetat	1 L	-	200.000
24	20/04/2014	Masker	2 pack	50.000	100.000
25	20/03/2014	pH spotone 60 watt	1 buah	17.500	17.500
26	25/04/2014	Kertas label	2 pack	7.500	15.000
27	25/04/2014	Aluminium foil	2 buah	20.000	40.000
28	25/04/2014	Plastik uk 1 kg	2 bks	13.500	27.000

29	25/04/2014	Transportasi Tim PKM	4 orang	25.000	100.000
30	07/05/2014	Botol spray 100 ml	5 buah	4.500	22.500
31	07/05/2014	Botol spray 30 ml	57 buah	3.000	171.000
32	07/05/2014	Uji FTIR	2 sampel	84.000	168000
33	07/05/2014	Transportasi tim PKM	4 Orang	40.000	160.000
34	07/05/2014	Uji Iradiasi Botol	75 botol	-	120.000
35	28/05/2014	Kertas buram	1 pack	17.500	17.500
36	28/05/2014	Pulpen	2 buah	1.700	3.400
37	31/05/2014	Masker	1 kotak	50.000	50.000
38	31/05/2014	Ethanol 70%	1 Liter	35.000	35.000
39	31/05/2014	Lampu uv	2 buah	50.000	100.000
40	31/05/2014	Aquarium bekas	1 buah	50.000	50.000
41	31/05/2014	Kain Hitam	3 meter	70.000	70.000
42	31/05/2014	Sprayer	1 buah	15.000	15.000
43	04/06/2014	Uji PSA	1 sampel	150.000	150.000
44	04/06/2014	Print proposal kemajuan	1 bulan	20.000	20.000
45	04/06/2014	print logbook	1 bulan	20.000	20.000
46	04/06/2014	Print buku konsultasi	1 bulan	17..200	17.200
47	20/06/2014	Pengujian TPC	4 sampel	60.000	240.000
48	20/06/2014	Peminjaman Lab Uji TPC	1 ruangan	105.000	105.000
49	23/06/2014	Tween 80	1 liter	100.000	100.000
50	23/06/2014	TPP	500 gram	150.000	150.000
51	23/06/2014	Transportasi TIM PKM	4 Orang	59.500	238.000
52	23/06/2014	Probandus Uji TPC	1 Orang	50.000	50.000
53	23/06/2014	Magnetic stirer pemutar	2 buah	50000	50.000
54	10/07/2014	Transportasi tim pkm ke Bogor	4 Orang	250000	1000000
55	16/04/2014	Kertas label	2 pack	7500	7500
56	16/04/2014	Plastik	2 pack	13500	27000
57	20/04/2014	Magnetic stirrer	1 buah	2800000	2800000
58	20/04/2014	Magnet pemutar	5 buah	20000	100000
59	31/05/2014	Cawan	80 buah	3000	240000
60	16/04/2014	Labeling	4 sampel	20.000	80.000
61	10/07/2014	Pembuatan poster PKM	1 buah	300.000	300.000
62	20/04/2014	Timbangan analitik	1 buah	250.000	250.000

63	20/04/2014	Pulsa internet	4 orang	-	250.000
Total Biaya					10.500.000

Dana terpakai : Rp 10.500.000  
Dana Dikti : Rp 10.500.000  
Sisa : Rp 0

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Uji Proksimat Cangkang Lobster

Pengujian proksimat bertujuan untuk mengetahui kandungan-kandungan kimia yang terdapat pada bahan. Pengujian proksimat meliputi uji kadar air, kadar protein, kadar abu, dan kadar lemak. Hasil pengujian proksimat pada cangkang lobster dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil uji proksimat cangkang lobster

Cangkang lobster	Kadar Air (%)	Kadar Protein (%)	Kadar Lemak (%)	Kadar Abu (%)	Karbohidrat by difference
Parameter					
Ulangan I	8,18	17,02	0,20	52,69	21,91
Ulangan II	8,18	17,02	0,20	52,50	22,10

Berdasarkan Tabel 1 diperoleh nilai kadar air cangkang lobster ulangan I dan II sebesar 8,18 %, kadar protein ulangan I dan II 17,02 %, kadar lemak ulangan I dan II 0,20 %, dan kadar abu ulangan I dan II 52,69% dan 52,50%. Hasil ini menunjukkan rendemen tertinggi pada cangkang lobster terdapat pada kadar abu yaitu 52,69 % dan rendemen terendah diperoleh pada kadar lemak yaitu 0,20%. Tingginya kadar abu menunjukkan oksida logam dan mineral pada cangkang lobster cukup tinggi (Ravichandran *et al.* 2009).

### Hasil Chitosan

Chitosan diperoleh setelah dilakukan proses pencucian, pengeringan menggunakan oven 40°C, demineralisasi HCl 1:7 (90°C, 1jam), deproteinasi NaOH 1:10 (90°C, 1jam), penambahan CaCO<sub>3</sub> (untuk memperbaiki warna chitosan yang dihasilkan dengan menghilangkan warna asli cangkang chitosan / depigmentasi) deasetilasi 50% NaOH (140°C, 1jam), netralisasi dan dilakukan pengeringan. Hasil chitosan cangkang lobster dapat dilihat pada Gambar 1.

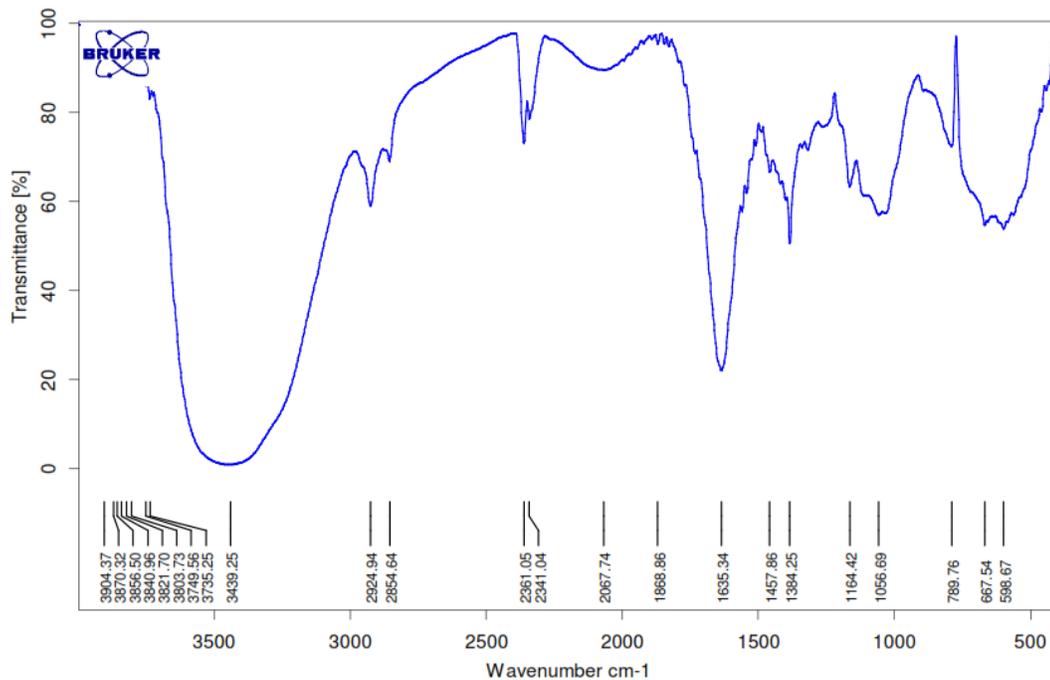


Gambar 1 Chitosan dari cangkang lobster

Hasil yang diperoleh pada Gambar 1 menunjukkan bahwa *chitosan* berbentuk serpihan berwarna putih kekuningan. proses pembuatan cangkang lobster menjadi chitosan sudah berhasil dilakukan. Selanjutnya akan dilakukan uji FTIR untuk menghitung derajat deasetilasi yang menunjukkan kualitas dari chitosan yang dihasilkan dan melihat gugus-gugus yang terdapat dalam chitosan lobster tersebut.

### **Pengujian FTIR**

Penentuan derajat deasetilasi dilakukan dengan analisis FTIR. Suatu frekuensi tertentu akan diserap ketika melewati sebuah sampel senyawa organik dan akan timbul vibrasi dalam molekul senyawa tersebut (Nagarajan et al. 2012). Analisis FTIR dilakukan untuk memastikan gugus fungsi senyawa yang dihasilkan dalam kitosan yaitu gugus fungsi NH, OH, C-C, CH dan C=O untuk kitin. Hasil deteksi FTIR tergambar dalam bentuk puncak-puncak gugus fungsi tersebut pada bilangan gelombang masing-masing. Berikut merupakan data hasil uji FTIR yang telah dilakukan:



Hasil analisis FTIR pada kitosan menunjukkan derajat deasetilasi sebesar 82%, hal ini sesuai dengan standar mutu yaitu  $\geq 70\%$  (Suptijah et al. 1992). Derajat deasetilasi menggambarkan/indicator penghilangan gugus asetil (COCH<sub>3</sub>) yang terdapat pada kitin. Kitin yang mengalami proses deasetilasi disebut kitosan. Derajat deasetilasi yang tinggi menunjukkan kemurnian dari kitosan yang dihasilkan (Suptijah et al. 1992).

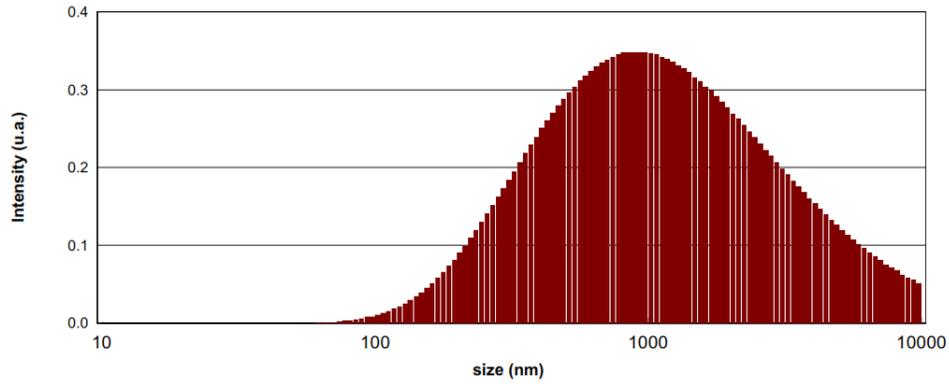
### Pembuatan Fine Particel Chitosan

Pembuatan *fine particel chitosan* dengan menggunakan *chitosan* yang sudah jadi dan memprosesnya menggunakan emulsifier yang merupakan senyawa pengikat silang dan surfaktan. Surfaktan yang banyak digunakan adalah surfaktan nonionik (Tween 80 dan Span 80). Pembuatan nanopartikel kitosan dengan gelasi ionik diawali dengan perlakuan pengecilan ukuran (*sizing*) dengan metode *magnetic stirer*, dengan penambahan emulsifier (Tween 80) dan tripolifosfat (TPP). Penambahan surfaktan berfungsi untuk menstabilkan emulsi partikel dalam larutan dengan cara mencegah timbulnya penggumpalan (aglomerasi) antarpartikel (Keuteur 1996).

### Pengujian PSA dan SEM

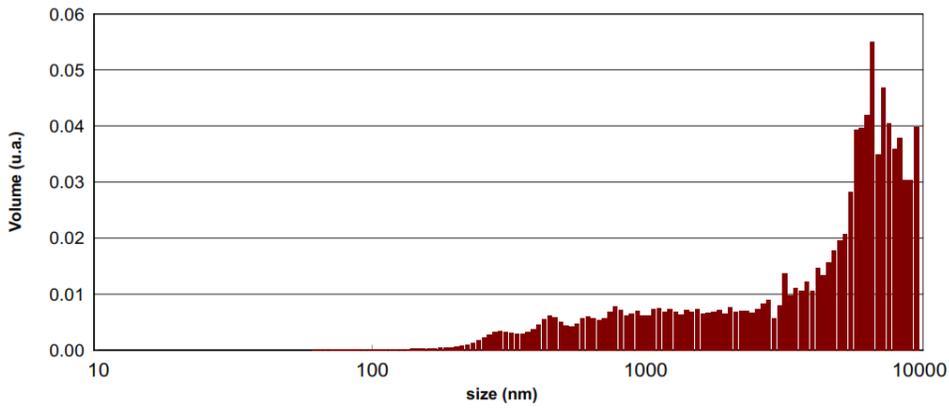
Nano chitosan yang dihasilkan diuji dengan PSA (*Particle Size Analyzing*) untuk mengetahui sebaran ukurannya. Hasil dari nano chitosan lobster dapat dilihat pada Gambar 3 dan 4 serta grafik analisis PSA dapat dilihat pada Gambar 5 dibawah ini:

**Size dispersion by Intensity**



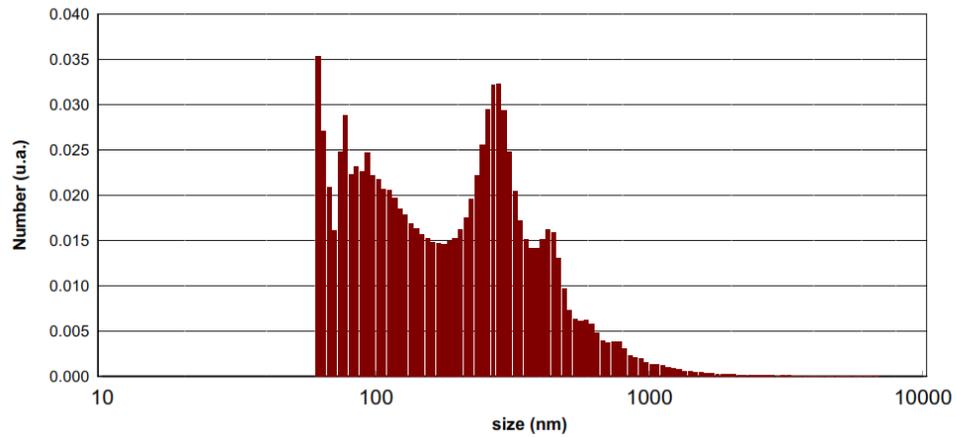
Gambar 5 Grafik hasil uji PSA

**Size dispersion by Volume**



Gambar 6 Grafik hasil uji PSA

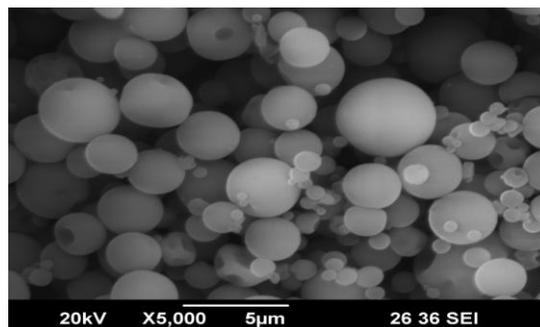
**Size dispersion by Number**



Gambar 7 Grafik hasil uji PSA

Gambar 5, 6 dan 7 memperlihatkan nano partikel chitosan lobster yang diperoleh dari hasil uji dengan Particle Size Analysis (PSA). Dari hasil uji distribusi ukuran partikel dengan PSA menunjukkan bahwa ukuran partikel dengan proses selama 4 jam menghasilkan partikel dengan ukuran 357,76 nm namun belum homogen dengan baik. Nanopartikel adalah butiran atau partikel padat dengan kisaran ukuran 10-1000 nm (Mohanraj dan Chen 2006). Teori kinetik molekul gas menyatakan bahwa molekul gas sering bertumbukan satu dengan lainnya dan molekul-molekul yang bereaksi. Laju reaksi akan berbanding lurus dengan banyaknya tumbukan molekul per detik, atau berbanding lurus dengan frekuensi tumbukan molekul. Semakin cepat putaran, memperbesar intensitas molekul pelarut untuk bersentuhan dengan kitosan, sehingga semakin besarnya intensitas kecepatan putaran pada *magnetic stirrer partikel yang dihasilkan* semakin kecil (Chang 2005).

*Scanning Electron Microscope* (SEM) digunakan dalam pengamatan morfologi dan penentuan ukuran *fine partikel chitosan*. Berikut merupakan gambar hasil pengujian SEM nano chitosan lobster yang disajikan pada Gambar 8:



Gambar 8 Hasil uji SEM nano chitosan lobster

### **Uji Iradiasi botol spray dan formulasi *mouth spray***

Pengujian iradiasi botol dimaksudkan agar cairan mouthspray yang sudah dibuat dapat tetap steril tersimpan dalam kemasan botol yang sudah steril melalui proses iradiasi. Pembuatan formulasi mouth spray dilakukan dengan membuat 3 jenis formulasi yaitu menggunakan perbandingan komposisi fine particel chitosan dan karagenan. Perbandingan fine particle chitosan dengan aquabides yaitu 50:50, 50:100, nano chitosan murni.

Berikut merupakan foto hasil pembuatan larutan mouthspray fined chitosan lobster:



Gambar 9 Mouthspray anti halitosis (bau mulut)

Mouthspray yang telah dikemas di dalam botol selanjutnya akan dilakukan uji TPC untuk mengetahui seberapa besar aktivitas mouthspay yang digunakan untuk menghambat bakteri menggunakan sampel bakteri mulut yang ada pada 1 orang probandus.

#### Uji TPC probandus

Kitosan memiliki kemampuan sebagai zat antibakteri karena memiliki sifat mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme terjadinya lisis pada membran sel (Simpson 1997). *Mouthspray* berbahan zat antibakteri nanokitosan diaplikasikan secara in-vivo pada probandus berusia 20 tahun dengan cara berkumur terlebih dahulu kemudian menyemprot mulut dengan nano kitosan. Selanjutnya, probandus berkumur lagi dan hasil kumuran tersebut dilakukan uji TPC. Perlakuan yang digunakan ialah kontrol, nano kitosan murni dan campuran kitosan dengan air. Perbandingan kitosan dengan air yang digunakan ialah sebesar 50:50 dan 50:100. Seluruh perlakuan diuji secara duplo. Hasil uji TPC nanokitosan secara in-vivo dapat dilihat pada Tabel 2. Prinsip kerja dari analisis TPC adalah perhitungan jumlah koloni bakteri yang ada di dalam sampel dengan pengenceran sesuai keperluan dan dilakukan secara duplo. Koloni yang tumbuh pada cawan petri dihitung dengan jumlah koloni yang dapat diterima 30-300 koloni per cawan. Nilai TPC dapat dihitung dengan mengkalikan jumlah koloni bakteri per jumlah pengencerannya (Fardiaz 1992).

Tabel 2. Hasil uji TPC

duplo (cawan)	sampel	perbandingan	pengenceran					perhitungan
			10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	
1	kontrol (air)	-	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	2,5x10 <sup>5</sup>
2	kontrol (air)	-	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	

1	chitosan:air	50:50	TBUD	TBUD	169	83	13	2,21x10 <sup>5</sup>
2	chitosan:air	50:50	TBUD	TBUD	198	38	14	
1	chitosan:air	50:100	TBUD	TBUD	TBUD	55	4	5,45x10 <sup>5</sup>
2	chitosan:air	50:100	TBUD	TBUD	TBUD	54	13	
1	nano chitosan murni	-	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	68	6,9x10 <sup>4</sup>
2	nano chitosan murni	-	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	70	

Hasil uji TPC menunjukkan bahwa pada pengenceran  $10^{-1}$  dan  $10^{-2}$  pada semua perlakuan memiliki jumlah koloni yang terlalu banyak untuk dihitung. Campuran kitosan dan air dengan perbandingan 50:50 lebih baik jika dibandingkan dengan campuran kitosan dan air pada perbandingan 50:100. Hal ini sesuai dengan pernyataan Liu (2003), yang menjelaskan bahwa aktivitas antibakteri tergantung pada konsentrasi kitosan dalam larutan. Aktivitas antibakteri dari kitosan dalam medium akan meningkat jika konsentrasi kitosan meningkat.

Nano kitosan murni merupakan hasil terbaik karena memiliki jumlah koloni bakteri terkecil pada perhitungan yaitu sebesar  $6,9 \times 10^4$ . Mekanisme aktivitas antibakteri kitosan terjadi melalui interaksi gugus  $\text{NH}_3$  glukosamin dengan permukaan sel yang bermuatan negatif (Eldin *et al.* 2008). Adanya daya tarik secara struktural antara dinding sel bakteri dan kitosan disebabkan karena dinding sel bakteri mengandung peptidoglikan yang struktur dasar rantai utamanya terdiri dari N-asetilglukosamin dan  $\beta$ -glikan (Qujeq dan Mossavi 2004).

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Limbah cangkang lobster dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri dalam pembuatan mouthspray anti halitosis (bau mulut). Nano partikel chitosan lobster yang dihasilkan memiliki nilai *Z-average* sebesar 357,76nm. Perlakuan formulasi mouthspray terbaik terdapat pada sampel nano *chitosan* murni yang memiliki jumlah koloni lebih sedikit dibandingkan yang lainnya.

### Saran

Perlu dilakukan pengujian anti bakteri spesifik jenis agar dapat menentukan seberapa besar kemampuan chitosan lobster menghambat pertumbuhan bakteri tertentu.

## DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist*. Arlington: The Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- Ermawati.et.al. Pemanfaatan Khitosan dari Limbah Rajungan sebagai Anti-mikroba pada Obat Kumur. 2009.<http://profetikfa.files.wordpress.com/2009/> (20 Oktober 2012).
- Harrington R.E. 1984. Viscosity. Di Dalam D.W. Gruenwedel dan J.R. Whitaker. *Food Analysis: Principles and Techniques, Vol 2, Physicochemical Techniques*. MarcelDekker, Inc., New York
- Kencana A. 2009. Perlakuan sonikasi terhadap kitosan: viskositas dan bobot molekul kitosan [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor
- Litsgarten MA. 2000. The Structure of Dental Plaque. *Journal Periodontol*. 5:5-65
- Mohanraj UJ and Y chen. 2006. *Nanoparticles - A Review. Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 5(1): 561-573.
- Ryan KJ, Ray CG. (editors), 2004. *Sherris Medical Microbiology* 4th edition. McGraw Hill, New York.
- Sugita P, Srijanto B, Arifin B, Mubarak M. 2010. Perilaku disolusi ketoprofen dan indometasin fanesil tesalut gel kitosan-gom guar. *Jurnal Sains Teknoogi Indonesia*.12:38-44.
- Shahidi F, Arachchi JKV, and Jeon Y-J. 1999. Food Applications of Chitin andChitosans. *Trends in Food Science and Technology* 10 : 37- Slepecky, R. A.and H. E. Hemphill. 1991. The genus Bacillius-nonmedical theprokaryotes. In Balows, A. (ed). *The Procaryotes, 2nd. Edn.*, Chapter 76, pp. 1663-1696. Springer Verlag. NY.
- Suptijah P. 2006. Deskripsi Karakterisasi Fungsional dan Aplikasi Kitin dan Kitosan. Di dalam Prosiding Seminar Nasional Kitin Kitosan. Bogor: Departemen Hasil Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Suryo S. 1993. *Ilmu Kedokteran Gigi dan Pencegahan* Yogyakarta : Gadjah Mada University Press

## LAMPIRAN

### Lampiran 1 Dokumentasi penelitian



**Cangkang Lobster**



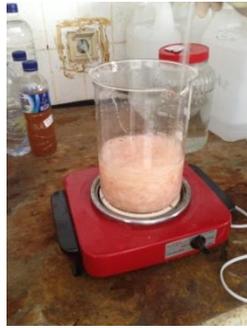
**Penghancuran Cangkang**



**Pengovenan cangkang**



**Proses Demineralisasi**



**Proses Deproteinasi**



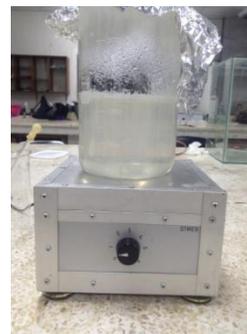
**Proses Deasetilasi**



**Chitosan lobster basah**



**Chitosan lobster kering**

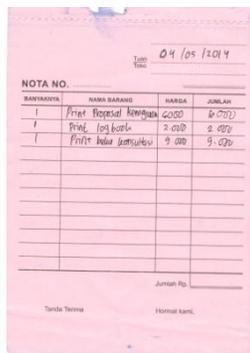


**Pembuatan nano chitosan**

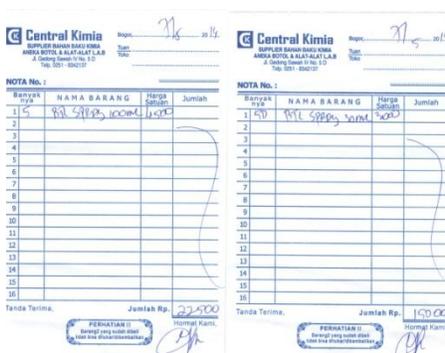




Nota pembelanjaan alat dan bahan



Nota print proposal



Nota pembelian botol spray



Nota analisis FTIR

Nota telah terima dari Annisa Ulfa Sefri (PBM)  
 Ulang sejumlah Dua ratus empat puluh dua ribu rupiah  
 Untuk pembayaran Pulsa 10.000 x 42. Alok. 200.000  
 Bayan 20 Juni 2014  
 Terbilang Rp. 420.000,-  
 (Empat)

Nota pembayaran lab uji TPC

ERA LAUT  
 NOTA NO. 20  
 Nama Barang: 2 kg lobster 100 gr  
 Harga @ 100.000  
 Jumlah: 200.000  
 Bayan 20 Juni 2014

Nota pembelian lobster air laut

ACC PUTRA Printing & Copier  
 Daftar barang dan harga  

Barang	Harga	Jumlah	Total
Paper 90	300.000	100	30.000.000

 Total Rp. 30.000.000

SETIA GUNA Chemicals & Lab. App  
 Faktur  

No	Uraian	Jumlah	Harga
1	Reagen kimia	100	100.000
2	Reagen kimia	100	100.000
3	Reagen kimia	100	100.000
4	Reagen kimia	100	100.000
5	Reagen kimia	100	100.000
6	Reagen kimia	100	100.000
7	Reagen kimia	100	100.000
8	Reagen kimia	100	100.000
9	Reagen kimia	100	100.000
10	Reagen kimia	100	100.000

 Total Rp. 1.000.000

OKTAR  
 Ringkas Koneksi VTM  
 Nota No. 02-04-14  

No	Nama Barang	Harga
1	Reagen kimia 100 gr	100.000

 TOTAL Rp. 100.000  
 Tanda Terima  
 Hormat Kami

Nota pembelian alat dan bahan

Nota telah terima dari Annisa Ulfa Sefri  
 Ulang sejumlah Dua ratus empat puluh dua ribu rupiah  
 Untuk pembayaran Analisis TPC - 4 sampel  
 Bayan 20 Juni 2014  
 Terbilang Rp. 240.000,-  
 (Empat)

Nota analisis uji TPC

