ORBITA: Jurnal Pendidikan dan Ilmu Fisika
ISSN : 2460-9587 (print) | ISSN : 2614-7017 (elektronik)
Volume 12, Number 2, November 2026, pp. 111-124

Variasi konsentrasi HCl pada demineralisasi cangkang *Pinctada maxima*: karakteristik preparat kitosan dan respons antibakteri

Susi Rahayu[1], Teguh Ardianto[1], Dian W. Kurniawidi[1], Halil Akhyar[2], Kormil Saputra[1], Siti Salisa Rohmi[3], Khayla Zahira[3], Selvira A.I. Maulidya[3*]

[1]Program Studi Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia
[2]Program Studi Teknik Informatika, Fakultas Teknik, Universitas Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia
[3]Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia
*Korespondensi : selvira@staff.unram.ac.id

Diterima:06 September 2026 | Direvisi:09 November 2026 | Disetujui:10 November 2026| Dipublikasikan Online:10 November 2026
© Penulis 2026

Abstract

Pinctada maxima pearl oyster shell waste has the potential to be utilized as a source of biopolymers; however, the effects of demineralization on the characteristics of the preparations and their antibacterial activity must be interpreted with caution. This exploratory study evaluated three HCl concentrations (0.5, 0.75, and 1.0 M) using Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy (EDX) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) to estimate the degree of deacetylation, as well as antibacterial assays against Escherichia coli and Staphylococcus aureus. A 0.1 g sample prepared in 1.25 mL of 1% acetic acid yielded an 80 mg/mL (8% w/v) solution. In the dilution test, after 1 mL of the solution was mixed with 10 mL of nutrient broth and 0.1 mL of inoculum, a nominal series of 80–5 mg/mL corresponded to calculated final concentrations of 7.21–0.45 mg/mL, assuming a constant additive volume. Residual Ca decreased from 32.17 ± 0.22 to 24.72 ± 0.01 at%, while the degree of deacetylation increased from 75.215% to 89.25%. At a nominal concentration of 80 mg/mL (≈7.21 mg/mL final), inhibition based on colony count reached 89.73% for S. aureus and 87.84% for E. coli, but the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) could not yet be determined. In the 1.5 mg/mL diffusion test, the inhibition zones were 9.83 ± 0.29 and 11.167 ± 3.753 mm, respectively; for E. coli, the 1% acetic acid control produced a zone of 13.67 ± 5.215 mm. The results indicate descriptive trends across demineralization conditions for the observed characteristics, rather than a causal process–structure–activity relationship. The persistently high Ca residue indicates that the product should more accurately be classified as a mineral-rich chitosan preparation that requires further purity characterization.

***Keywords**: Pinctada maxima; chitosan; demineralization; hydrochloric acid; antibacterial activity*

Abstrak

Limbah cangkang kerang mutiara *Pinctada maxima* berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber biopolimer, tetapi pengaruh demineralisasi terhadap karakteristik preparat dan respons antibakterinya perlu ditafsirkan secara hati-hati. Penelitian eksploratif ini mengevaluasi tiga konsentrasi HCl (0.5; 0.75; dan 1.0 M) melalui karakterisasi Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy (EDX) dan Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) untuk mengestimasi derajat deasetilasi serta uji antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Preparasi 0.1 g dalam 1.25 mL asam asetat 1% menghasilkan larutan 80 mg/mL (8% b/v). Pada uji dilusi, setelah 1 mL larutan dicampur dengan

10 mL nutrient broth dan 0.1 mL inokulum, seri nominal 80–5 mg/mL setara dengan konsentrasi akhir terhitung 7.21–0.45 mg/mL dengan asumsi volume aditif. Ca residual menurun dari 32.17 ± 0.22 menjadi 24.72 ± 0.01 at%, sedangkan derajat deasetilasi meningkat dari 75.215% menjadi 89.25%. Pada konsentrasi nominal 80 mg/mL (≈7.21 mg/mL akhir), penghambatan berdasarkan jumlah koloni mencapai 89.73% untuk *S. aureus* dan 87.84% untuk *E. coli*, tetapi KHM dan KBM belum dapat ditetapkan. Pada uji difusi 1.5 mg/mL, zona hambat masing-masing 9.83 ± 0.29 dan 11.167 ± 3.753 mm; pada *E. coli*, kontrol asam asetat 1% menghasilkan 13.67 ± 5.215 mm. Hasil menunjukkan kecenderungan deskriptif antar-kondisi demineralisasi untuk karakteristik yang diamati, bukan hubungan kausal proses–struktur–aktivitas. Residu Ca yang masih tinggi menunjukkan bahwa produk lebih tepat diperlakukan sebagai preparat kitosan kaya mineral yang memerlukan karakterisasi kemurnian lanjutan.

Kata kunci: *Pinctada maxima*; kitosan; demineralisasi; asam klorida; aktivitas antibakteri

Cara Mengutip: Rahayu, S., Ardianto, T., Kurniawidi, D. W., Akhyar, H., Saputra, K., Rohmi, S.S., Zahira, K., Maulidya, S.A.I. (2026). Variasi konsentrasi HCl pada demineralisasi cangkang Pinctada maxima: karakteristik preparat kitosan dan respons antibakteri. *ORBITA: Jurnal Pendidikan dan Ilmu Fisika*, *12*(2), 111–124. https://doi.org/10.31764/orbita.v12i1. https://doi.org/10.31764/orbita.v12i2.43009

PENDAHULUAN

Resistensi antimikroba mendorong pencarian material antibakteri yang dapat melengkapi strategi pengendalian infeksi. Analisis global memperkirakan 1.27 juta kematian secara langsung berkaitan dengan resistensi antimikroba bakteri pada 2019, sehingga pengembangan material berbasis sumber terbarukan tetap relevan (Murray et al., 2022). Kitosan menarik karena memiliki gugus amino yang dapat terprotonasi pada kondisi asam, bersifat biodegradable, dan telah banyak dikaji sebagai material antimikroba (Confederat et al., 2021; Kou et al., 2022).

Cangkang kerang mutiara *Pinctada maxima* merupakan biomassa mineral-organik yang dapat diarahkan menjadi sumber kitin/kitosan. Secara umum, ekstraksi kitin/kitosan dari limbah cangkang dipengaruhi oleh kondisi kimia dan proses, termasuk perlakuan asam serta tahapan deproteinasi dan deasetilasi (Gao et al., 2024; Hosney et al., 2022). Pada *P. maxima*, penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kondisi isolasi berkaitan dengan karakteristik material seperti derajat deasetilasi, gugus fungsi, viskositas, kristalinitas, dan ukuran partikel (Kurniawidi et al., 2024; Nurlaili et al., 2022; Rahayu et al., 2025). Studi yang lebih komprehensif juga melaporkan potensi antibakteri preparat berbasis *P. maxima* sekaligus pentingnya karakterisasi fisikokimia multiparameter sebelum menghubungkan proses isolasi dengan fungsi biologisnya (Rahayu et al., 2026).

Tahap demineralisasi terutama ditujukan untuk melarutkan fraksi anorganik, khususnya mineral kalsium, sebelum tahapan deproteinasi dan deasetilasi. Karena itu, keberhasilan proses tidak cukup dinilai dari rendemen. Analisis Energy Dispersive X-ray (EDX) dapat memberikan profil unsur permukaan secara semi-kuantitatif, sedangkan Fourier Transform Infrared (FTIR) menyediakan informasi vibrasi gugus fungsi dan dapat digunakan untuk memperkirakan derajat deasetilasi. Kebutuhan karakterisasi lebih dari satu parameter juga ditekankan pada kajian ekstraksi dan pemurnian kitin/kitosan dari sumber cangkang lain (Kozma et al., 2022; Tissera et al., 2021), serta relevan dengan kajian material *P. maxima* sebelumnya (Kurniawidi et al., 2024; Rahayu et al., 2025).

Penilaian aktivitas antibakteri kitosan sensitif terhadap konsentrasi, pH, kelarutan, berat molekul, derajat deasetilasi, serta metode pengujian (Confederat et al., 2021; Ke et al., 2021). Kitosan umumnya dilarutkan dalam asam organik encer; kondisi ini meningkatkan protonasi gugus amino, tetapi pelarut seperti asam asetat juga dapat menghasilkan efek antibakteri sendiri. Oleh sebab itu, kontrol pelarut

diperlukan dan zona hambat kitosan harus dibandingkan langsung dengan kontrol tersebut, bukan hanya dengan kontrol antibiotik.

Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli* digunakan sebagai model bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Penelitian terdahulu pada kitosan *P. maxima* juga mengevaluasi kedua bakteri dan menunjukkan bahwa respons antibakteri sangat bergantung pada konsentrasi serta rancangan uji (Alaydrus et al., 2025). Namun, perbandingan lintas spesies hanya dapat ditafsirkan secara terbatas bila material, volume sumuran, pelarut, dan karakterisasi awal tidak identik.

Perbedaan fokus studi terdahulu memperlihatkan celah yang hendak dijawab penelitian ini. Kurniawidi et al., (2024) terutama membandingkan metode pemanasan dan daya microwave pada deasetilasi, sedangkan (Rahayu et al., 2026) memvariasikan urutan isolasi, konsentrasi NaOH, serta waktu microwave dengan karakterisasi fisikokimia yang lebih luas. Alaydrus et al., (2025) memusatkan perhatian pada pengaruh konsentrasi preparat terhadap respons dua bakteri. Berbeda dari fokus tersebut, penelitian ini secara khusus membandingkan tingkat HCl 0.5, 0.75, dan 1.0 M pada demineralisasi melalui residu Ca, estimasi derajat deasetilasi, serta pembacaan hasil antibakteri dengan mempertimbangkan efek asam asetat. Kebaruannya terletak pada pemetaan deskriptif ketiga kondisi tersebut dan penelusuran keterbatasan atribusi efek antibakteri, bukan pada klaim hubungan kausal atau optimasi proses.

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi kecenderungan perubahan komposisi unsur dan derajat deasetilasi preparat kitosan cangkang *P. maxima* pada demineralisasi HCl 0.5; 0.75; dan 1.0 M, serta mendeskripsikan respons antibakterinya terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Hipotesis eksploratif yang diuji secara deskriptif adalah bahwa peningkatan konsentrasi HCl akan diikuti penurunan residu Ca, sedangkan preparat pada kondisi demineralisasi lebih kuat dapat menunjukkan karakteristik kitosan dan respons penghambatan yang berbeda.

METODE

Desain Penelitian dan Kerangka Eksperimen

Penelitian menggunakan cangkang *Pinctada maxima* dari perairan Lombok, Nusa Tenggara Barat, dan tiga konsentrasi HCl pada tahap demineralisasi (0.5; 0.75; dan 1.0 M). Analisis menggunakan EDX untuk karakterisasi unsur dan FTIR untuk karakterisasi gugus fungsi serta perhitungan derajat deasetilasi, kemudian uji antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Uji antibakteri mencakup pendekatan dilusi/colony counting dan difusi sumuran.

Rancangan bersifat eksploratif-deskriptif. Ketiga konsentrasi HCl tidak diuji sebagai batch biologis independen berulang. Sampel untuk EDX dan FTIR berasal dari rangkaian preparasi yang tidak identik, dan kedua teknik tidak diterapkan pada batch yang sama; akibatnya, nilai Ca dan derajat deasetilasi bukan pasangan pengukuran yang dapat dikorelasikan secara langsung. Respons antibakteri juga dianalisis secara terpisah dari kedua karakterisasi tersebut. Dengan demikian, data komposisi unsur, derajat deasetilasi, dan respons antibakteri diperlakukan sebagai temuan paralel dan tidak digunakan untuk menyimpulkan hubungan kausal proses–struktur–aktivitas. Dari 269.45 g serbuk awal, 80 g dialokasikan untuk setiap tingkat HCl (total 240 g).

Preparasi Cangkang dan Isolasi Kitosan

Cangkang dibersihkan dengan air mengalir dan disikat untuk menghilangkan jaringan, sedimen, dan kontaminan yang melekat. Cangkang kemudian dikeringkan pada 70°C selama 2 jam, dihancurkan,

digiling, dan diayak menggunakan ayakan 100 mesh. Preparasi menghasilkan 269.45 g serbuk; setiap kondisi demineralisasi menggunakan 80 g serbuk.

Demineralisasi dilakukan pada rasio serbuk cangkang:HCl 1:15 (b/v), setara dengan 1200 mL larutan HCl untuk setiap 80 g serbuk. Konsentrasi HCl yang digunakan adalah 0.5; 0.75; dan 1.0 M. Suspensi diaduk selama 3 jam pada suhu ruang dan didiamkan 1 jam; residunya kemudian dicuci hingga pH bilasan netral dan dikeringkan. Deproteinasi dilakukan menggunakan NaOH 4% pada rasio 1:10 (b/v) selama 1 jam pada 80°C, dilanjutkan pencucian netral dan pengeringan. Dekolorisasi menggunakan NaOCl 0.5% pada rasio 1:10 (b/v) selama 1 jam pada 75°C, kemudian dicuci hingga netral dan dikeringkan pada 80°C.

Deasetilasi dilakukan menggunakan NaOH 60% pada rasio 1:15 (b/v), diaduk selama 1 jam, kemudian dipanaskan dengan microwave pada pengaturan daya tinggi selama 15 menit. Material didiamkan, dicuci hingga pH netral, dikeringkan pada 60°C sekitar 2 jam, digiling, dan ditimbang. Rendemen dilaporkan sesuai catatan eksperimen sumber; karena basis perhitungan antar-rangkaian eksperimen tidak sepenuhnya seragam, nilai rendemen tidak digabungkan sebagai satu seri kuantitatif. Daya microwave dalam watt, siklus pemanasan, dan suhu sampel selama perlakuan belum tersedia dalam catatan eksperimen.

Karakterisasi Fisikokimia

Komposisi unsur preparat kitosan dianalisis menggunakan EDX pada kondisi vakum rendah. Karbon, oksigen, dan nitrogen dicatat sebagai unsur utama, sedangkan Na, Mg, Al, Si, P, dan Ca dievaluasi sebagai sinyal unsur residual. Hidrogen tidak dapat diukur dengan teknik ini. Ca digunakan sebagai indikator residu mineral pada area yang dianalisis, bukan ukuran langsung kemurnian seluruh sampel. Nilai komposisi dilaporkan dalam persen atom (at%); identitas instrumen, prosedur preparasi permukaan, dan jumlah titik ukur perlu diverifikasi dari log pengukuran.

Spektrum FTIR digunakan untuk mengidentifikasi pita regangan O–H, regangan C–H, tekukan N–H_2, tekukan C–H_3, C–O–C glukosamin, dan ikatan β-1.4-glikosidik. Transmitansi (T, %) pada pita analitik dikonversi menjadi absorbansi menggunakan $A = \log_{10}(100/T)$. Absorbansi pada sekitar 1655 cm^{-1} (wilayah amida I) dan 3450 cm^{-1} (regangan O–H/N–H) dikoreksi terhadap baseline lokal pada spektrum dengan bantuan OriginLab; selanjutnya, derajat deasetilasi diperkirakan menggunakan DD (%) = 100 − [(A_{1655}/A_{3450}) × (100/1.33)]. Nilai akhir dilaporkan sesuai perhitungan pada dokumen sumber. Rasio kedua pita digunakan sebagai pendekatan empiris untuk mengestimasi derajat deasetilasi; penetapan baseline dan residu mineral dapat memengaruhi hasil estimasi.

Uji Antibakteri

Peralatan mikrobiologi disterilisasi pada 121°C selama 15 menit. Nutrient agar dan nutrient broth disiapkan secara aseptik. Target konsentrasi inokulum untuk uji dilusi adalah sekitar 10^3 CFU/mL. Pada preparasi inokulum *E. coli*, kekeruhan suspensi awal dibandingkan dengan standar 0.5 McFarland; standar kekeruhan ini tidak setara langsung dengan target 10^3 CFU/mL. Kloramfenikol 1 mg/mL digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan asam asetat 1% digunakan sebagai kontrol pelarut pada uji difusi. Rasio pengenceran dan verifikasi kepadatan inokulum aktual belum tercantum dalam catatan eksperimen.

Prosedur preparasi mendokumentasikan 0.1 g kitosan dalam 1.25 mL asam asetat 1%. Secara massa/volume, preparasi tersebut setara dengan 80 mg/mL atau 8% b/v. Seri larutan sebelum pencampuran dengan medium selanjutnya disebut konsentrasi nominal, yaitu 80, 40, 20, 10, dan 5

mg/mL; pada skrining awal difusi *S. aureus* digunakan 20, 40, 60, dan 80 mg/mL. Normalisasi satuan ini mengikuti massa dan volume preparasi yang terdokumentasi dan tidak mengubah komposisi eksperimental. Dokumentasi yang tersedia belum merinci langkah pembuatan seri nominal, jenis pengencer, dan volume masing-masing komponennya.

Pada uji dilusi, 1 mL larutan pada setiap konsentrasi nominal dimasukkan ke 10 mL nutrient broth dan diinokulasi dengan 0.1 mL suspensi bakteri, sehingga volume campuran sebelum inkubasi adalah 11.1 mL. Dengan asumsi volume aditif, konsentrasi akhir kitosan dihitung sebagai Cakhir = Cnominal × (1/11.1); dengan demikian, 80, 40, 20, 10, dan 5 mg/mL masing-masing setara dengan sekitar 7.21; 3.60; 1.80; 0.90; dan 0.45 mg/mL dalam sistem uji. Setelah inkubasi 24 jam pada 37°C, 0.1 mL campuran ditanam pada nutrient agar untuk penghitungan koloni. Persentase penghambatan dihitung sebagai [(Kkontrol − P)/Kkontrol] × 100, dengan Kkontrol adalah jumlah koloni kontrol negatif dan P adalah jumlah koloni perlakuan. Dokumen sumber tidak mencatat secara memadai cara pengenceran seri terhadap pelarut, sehingga konsentrasi akhir asam asetat pada setiap tabung dan kesepadanan kontrol pelarut tidak dapat direkonstruksi secara pasti; karena itu, kontribusi pelarut terhadap penurunan jumlah koloni tidak dapat dipisahkan secara kuantitatif.

Uji difusi sumuran akhir menggunakan kitosan 1.5; 1.0; dan 0.5 mg/mL yang disiapkan dari stok berbasis asam asetat. Kloramfenikol 1 mg/mL digunakan sebagai kontrol positif dan asam asetat 1% sebagai kontrol pelarut. Volume yang dimasukkan ke sumuran adalah 50 µL pada *S. aureus* dan 60 µL pada *E. coli*. Pengujian dilakukan dalam tiga ulangan teknis. Diameter zona hambat dihitung dari rata-rata diameter vertikal dan horizontal setelah dikurangi diameter sumuran. Diameter sumuran, ketebalan agar, teknik penyebaran inokulum, dan kondisi inkubasi untuk uji difusi belum terinci dalam dokumentasi yang tersedia.

Analisis Data dan Integritas Data

Data disajikan secara deskriptif sebagai nilai individual, persentase, atau rerata ± simpangan baku sesuai catatan sumber. Uji inferensial tidak diterapkan karena ulangan yang tersedia terutama merupakan ulangan teknis, bukan batch biologis independen. Nilai derajat deasetilasi diperoleh sebagai estimasi dari spektrum yang tersedia tanpa replikasi independen, sehingga tidak tersedia ukuran variasi dan selisih antarkondisi tidak dapat dinilai reliabilitasnya secara statistik. Oleh karena itu, istilah “berbeda”, “meningkat”, dan “menurun” pada bagian hasil merujuk pada kecenderungan numerik yang diamati. Pada analisis uji antibakteri *E. coli*, kontrol positif dilusi ditetapkan 23 CFU berdasarkan rekonsiliasi data mentah. Simpangan baku pada uji difusi berasal dari tiga ulangan teknis, sedangkan jumlah titik/ulangan yang mendasari nilai rerata ± simpangan baku EDX belum dapat dipastikan. Hasil colony counting dilaporkan per kondisi tanpa taksiran variasi antarbatch independen.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Isolasi dan Implikasi Proses

Pengolahan 80 g serbuk pada setiap kondisi menghasilkan kehilangan massa yang besar sepanjang tahapan isolasi. Penurunan massa konsisten dengan pelepasan komponen cangkang selama pemrosesan, tetapi tidak dapat langsung disamakan dengan peningkatan kemurnian kitosan tanpa data kadar abu, komposisi kimia total, atau karakterisasi kemurnian tambahan (Tabel 1).

Tabel 1. Rendemen tahapan isolasi berdasarkan catatan eksperimen sumber.

Tahap	HCl 0.5 M	HCl 0.75 M	HCl 1.0 M
demineralisasi	62.18%	42.18%	24.19%
deproteinasi	96.02%	96.29%	88.37%
dekolorisasi	96.15%	95.91%	92.69%
deasetilasi	73.48%	22.85%	14.51%

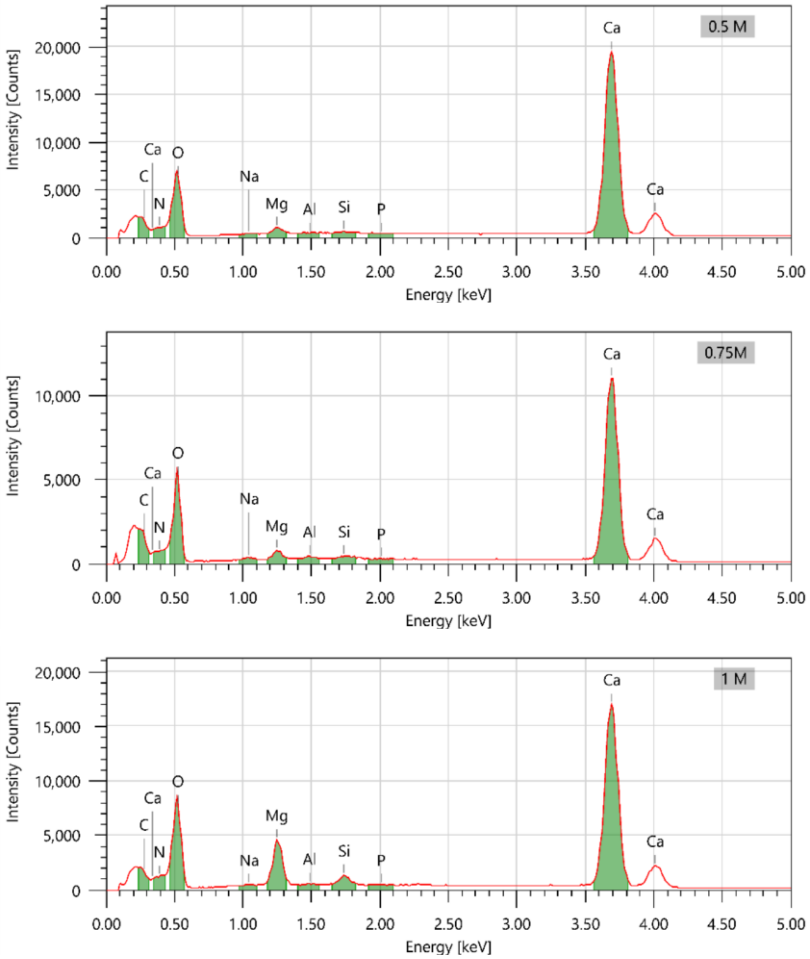
Komposisi Unsur Residual setelah Demineralisasi

EDX menunjukkan Ca residual sebesar 32.17 ± 0.22 at% pada HCl 0.5 M, 25.73 ± 0.01 at% pada 0.75 M, dan 24.72 ± 0.01 at% pada 1.0 M (Tabel 2; Gambar 1). Secara deskriptif, nilai pada 1.0 M sekitar 23.2% lebih rendah daripada pada 0.5 M. Pola ini konsisten dengan fungsi HCl untuk melarutkan fraksi mineral selama demineralisasi, tetapi Ca sebesar 24.72 at% masih menunjukkan bahwa penghilangan mineral belum lengkap.

Tabel 2. Komposisi unsur EDX preparat kitosan setelah demineralisasi dengan HCl berbeda (at%).

Unsur	0.5 M	0.75 M	1.0 M
C	1.48 ± 0.06	2.20 ± 0.09	1.17 ± 0.06
O	64.98 ± 0.96	64.85 ± 1.04	65.25 ± 0.88
N	5.45 ± 0.53	8.06 ± 0.67	6.66 ± 0.52
Na	0.27 ± 0.03	0.45 ± 0.23	0.21 ± 0.20
Mg	0.98 ± 0.05	1.02 ± 0.05	0.87 ± 0.03
Al	0.01 ± 0.01	0.18 ± 0.06	0.14 ± 0.11
Si	0.08 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.05 ± 0.02
P	0.04 ± 0.01	0.02 ± 0.02	0.02 ± 0.04
Ca	32.17 ± 0.22	25.73 ± 0.01	24.72 ± 0.01

Unsur minor lain tidak menunjukkan pola monoton yang konsisten. Selain itu, C hanya 1.17–2.20 at% pada pengukuran EDX, sementara Ca tetap tinggi. Kombinasi residu Ca yang besar dan sinyal C yang rendah menunjukkan bahwa identitas serta kemurnian material tidak dapat dikonfirmasi secara kuat hanya dari EDX. Karena EDX bersifat semi-kuantitatif dan terutama merepresentasikan daerah permukaan yang dianalisis, data ini juga tidak cukup untuk menetapkan kemurnian bulk. Dengan demikian, istilah yang lebih tepat untuk material dalam penelitian ini adalah preparat kitosan kaya mineral, bukan kitosan murni. Kajian ekstraksi dan pemurnian dari sumber cangkang lain menekankan perlunya evaluasi kimia yang lebih lengkap untuk menilai mutu produk (Kozma et al., 2022; Tissera et al., 2021), sedangkan penelitian *P. maxima* sebelumnya menggunakan kombinasi FTIR, XRD, uji proksimat, ukuran partikel, dan parameter fisikokimia lain (Rahayu et al., 2025, 2026).



Gambar 1. Spektrum EDX preparat kitosan setelah demineralisasi dengan HCl 0.5 M (A), 0.75 M (B), dan 1.0 M (C).

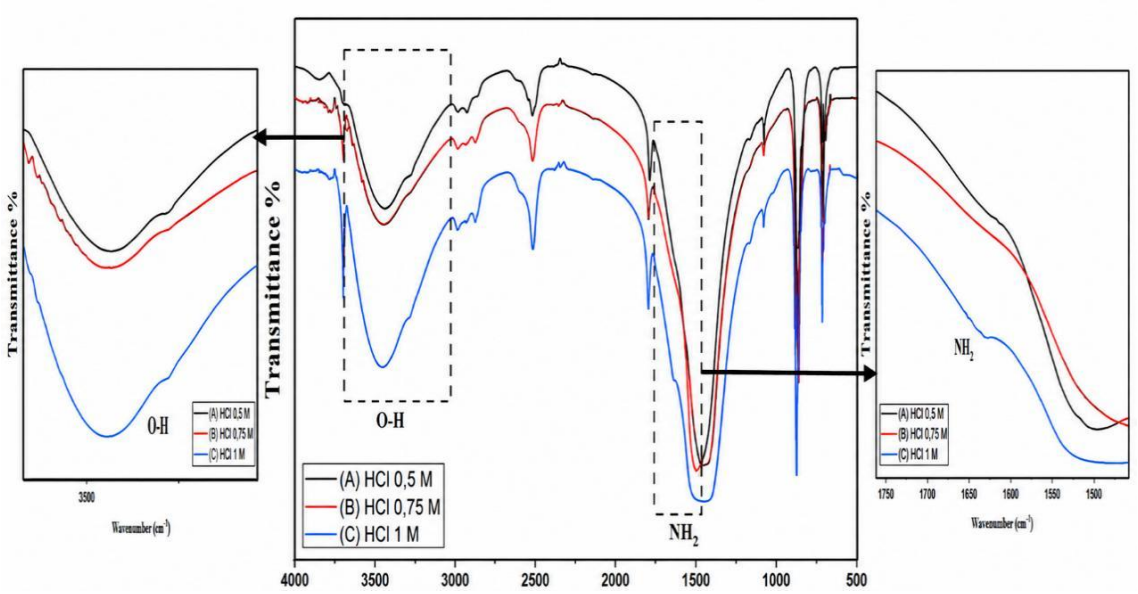
Karakteristik FTIR dan Derajat Deasetilasi

Ketiga preparasi memperlihatkan pita FTIR yang konsisten dengan gugus fungsi kitosan (Tabel 3; Gambar 2). Pita O–H teramati pada 3436.31; 3434.52; dan 3448.72 cm^{-1}, sedangkan pita tekukan N–H_2 berada pada 1603; 1619; dan 1630 cm^{-1} untuk HCl 0.5; 0.75; dan 1.0 M. Kehadiran gugus O–H/N–H dan C–O–C sejalan dengan karakterisasi kitosan secara umum (Kozma et al., 2022) dan dengan laporan pada *P. maxima* (Kurniawidi et al., 2024; Rahayu et al., 2025). Pergeseran kecil posisi pita di antara perlakuan dapat mencerminkan perbedaan lingkungan ikatan, tetapi tidak cukup untuk menyimpulkan perubahan struktur molekul tertentu tanpa analisis tambahan.

Tabel 3. Posisi pita FTIR dan estimasi derajat deasetilasi pada tiga kondisi demineralisasi.

Parameter	Referensi	0.5 M	0.75 M	1.0 M
Regangan O–H	3434.64	3436.31	3434.52	3448.72
Regangan C–H	2521.18	2517.92	2521.39	2516.90
Tekukan N–H_2	1628.71	1603	1619	1630
Tekukan C–H_3	1465.35	1440.05	1493.98	1450.50

Parameter	Referensi	0.5 M	0.75 M	1.0 M
C–O–C (glukosamin)	1083.03	1082.87	1082.81	1082.93
β-1.4-glikosidik	872.29	873	873	874
Derajat deasetilasi	—	75.215%	77.393%	89.25%



Gambar 2. Spektrum FTIR preparat kitosan setelah demineralisasi dengan HCl 0.5 M (A), 0.75 M (B), dan 1.0 M (C).

Derajat deasetilasi tercatat 75.215% pada 0.5 M, 77.393% pada 0.75 M, dan 89.25% pada 1.0 M. Nilai tersebut merupakan estimasi tunggal dari spektrum yang tersedia tanpa replikasi independen; karena itu, tidak tersedia simpangan baku dan selisih 14.035 poin persentase antara 0.5 dan 1.0 M tidak dapat dinilai signifikansi atau reliabilitas statistiknya. Selain itu, deasetilasi dilakukan pada tahap basa yang terpisah dari demineralisasi, sehingga data ini tidak membuktikan bahwa HCl secara langsung menyebabkan peningkatan derajat deasetilasi. Derajat deasetilasi diketahui peka terhadap kondisi tahap basa dan pemrosesan (Namli et al., 2023; Nguyen et al., 2022; Sánchez et al., 2021), dan kajian *P. maxima* juga menunjukkan pengaruh kondisi deasetilasi terhadap karakteristik material (Kurniawidi et al., 2024; Rahayu et al., 2025). Karena itu, hasil saat ini diperlakukan sebagai kecenderungan antar-preparat yang memerlukan konfirmasi pada batch yang sama dengan replikasi independen.

Respons Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*

Skrining awal difusi pada *S. aureus* tidak menunjukkan hubungan dosis–respons sederhana (Tabel 4). Pada ketiga preparat, zona hambat pada 20 mg/mL lebih besar daripada pada 80 mg/mL. Pada preparat HCl 1.0 M, misalnya, zona turun dari 8.00 ± 2.50 mm pada 20 mg/mL menjadi 1.83 ± 1.15 mm pada 80 mg/mL. Pola non-monotonik ini dapat berkaitan dengan keterbatasan difusi larutan kitosan yang semakin pekat, agregasi, atau variasi teknis, tetapi mekanisme tersebut tidak diukur dalam penelitian ini. Karena itu, skrining awal hanya digunakan untuk deskripsi dan pemilihan preparat, bukan sebagai bukti bahwa konsentrasi yang lebih tinggi selalu meningkatkan zona hambat.

Tabel 4. Skrining awal zona hambat *S. aureus* pada tiga preparat kitosan dengan konsentrasi berbasis massa (mm).

Kelompok	HCl 0.5 M	HCl 0.75 M	HCl 1.0 M
Kitosan 20 mg/mL	8.00 ± 2.50	7.33 ± 2.02	8.00 ± 2.50
Kitosan 40 mg/mL	6.00 ± 1.32	7.00 ± 0.00	8.17 ± 4.04
Kitosan 60 mg/mL	4.17 ± 2.36	6.50 ± 0.50	6.83 ± 0.29
Kitosan 80 mg/mL	2.17 ± 0.29	2.00 ± 0.50	1.83 ± 1.15
Kloramfenikol	17.17 ± 0.58	16.50 ± 2.18	17.17 ± 0.29
Asam asetat	6.00 ± 0.50	5.50 ± 2.50	7.00 ± 4.06

Pada uji dilusi *S. aureus*, jumlah koloni menurun dari 140 CFU/cawan pada konsentrasi nominal 10 mg/mL (≈0.90 mg/mL akhir terhitung) menjadi 34 CFU/cawan pada 80 mg/mL (≈7.21 mg/mL akhir terhitung), setara dengan penghambatan 57.70–89.73% terhadap kontrol negatif 331 CFU/cawan (Tabel 5). Kontrol kloramfenikol menghasilkan 13 CFU/cawan atau 96.07% penghambatan. Pertumbuhan koloni masih ditemukan pada semua konsentrasi kitosan, sehingga KHM dan KBM belum dapat ditetapkan berdasarkan data yang tersedia pada rentang ini. Walaupun jumlah koloni menurun seiring peningkatan konsentrasi, kontribusi spesifik kitosan tidak dapat dipisahkan sepenuhnya dari asam asetat karena konsentrasi akhir pelarut dan kontrol pelarut yang benar-benar sepadan pada seri dilusi tidak terdokumentasi secara memadai.

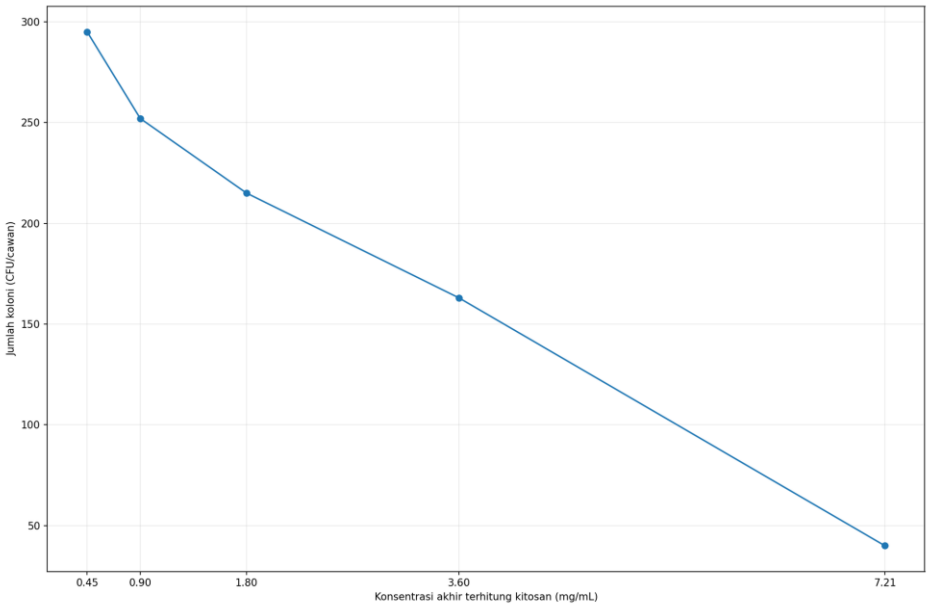
Respons Antibakteri terhadap *Escherichia coli*

Uji dilusi *E. coli* juga menunjukkan penurunan jumlah koloni dengan meningkatnya konsentrasi: 295, 252, 215, 163, dan 40 CFU/cawan masing-masing pada konsentrasi nominal 5, 10, 20, 40, dan 80 mg/mL, yang setara dengan konsentrasi akhir terhitung sekitar 0.45; 0.90; 1.80; 3.60; dan 7.21 mg/mL, dibandingkan 329 CFU/cawan pada kontrol negatif (Tabel 5). Persentase penghambatan yang dihitung dari data tersebut adalah 10.33; 23.40; 34.65; 50.46; dan 87.84%. Kontrol kloramfenikol yang telah direkonsiliasi dari data mentah berjumlah 23 CFU/cawan, setara dengan 93.01% penghambatan. Karena koloni tetap ditemukan pada semua konsentrasi kitosan, KHM dan KBM belum dapat ditetapkan dari penghitungan koloni yang tersedia. Seperti pada *S. aureus*, ketidaktersediaan kontrol pelarut yang benar-benar sepadan membatasi atribusi efek secara spesifik kepada kitosan.

Tabel 5. Jumlah koloni dan persentase penghambatan pada uji dilusi. Untuk kitosan, konsentrasi ditulis sebagai nominal (akhir terhitung) dalam mg/mL.

Bakteri	Kelompok / konsentrasi (mg/mL)	Jumlah koloni (CFU/cawan)	Penghambatan
S. aureus	80 (7.21)	34	89.73%

Bakteri	Kelompok / konsentrasi (mg/mL)	Jumlah koloni (CFU/cawan)	Penghambatan
S. aureus	40 (3.60)	61	81.57%
S. aureus	20 (1.80)	120	63.75%
S. aureus	10 (0.90)	140	57.70%
S. aureus	Kontrol negatif	331	0%
S. aureus	Kloramfenikol	13	96.07%
E. coli	80 (7.21)	40	87.84%
E. coli	40 (3.60)	163	50.46%
E. coli	20 (1.80)	215	34.65%
E. coli	10 (0.90)	252	23.40%
E. coli	5 (0.45)	295	10.33%
E. coli	Kontrol negatif	329	0%
E. coli	Kloramfenikol	23	93.01%



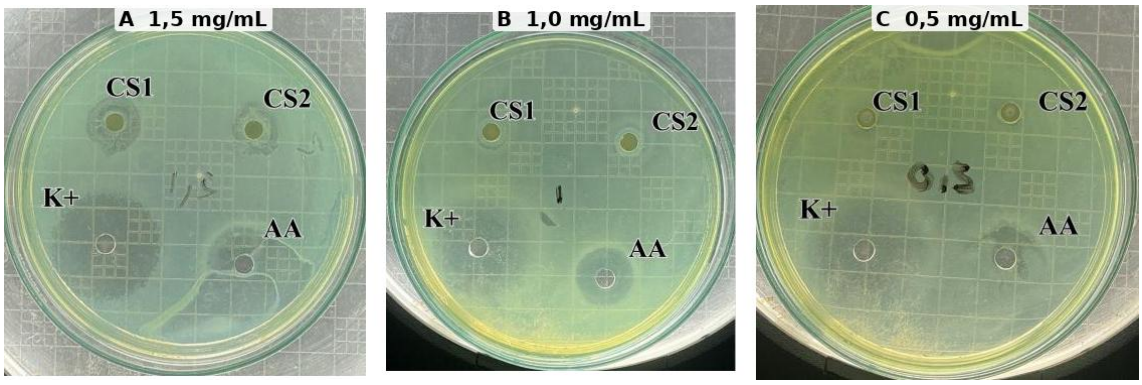
Gambar 3. Hubungan deskriptif antara konsentrasi akhir terhitung kitosan (mg/mL) dan jumlah koloni *E. coli* pada uji dilusi. Garis hanya menghubungkan titik pengamatan; tidak dilakukan analisis regresi inferensial.

Pada uji difusi akhir, zona hambat *S. aureus* sebesar 9.83 ± 0.29 mm pada 1.5 mg/mL, 5.50 ± 0.50 mm pada 1.0 mg/mL, dan 1.83 ± 0.58 mm pada 0.5 mg/mL (Tabel 6). Kloramfenikol menghasilkan 18.33 ± 0.58 mm, sedangkan asam asetat 1% menghasilkan 5.83 ± 0.29 mm. Hanya pada 1.5 mg/mL rerata zona kitosan secara numerik melebihi rerata kontrol pelarut (selisih 4.00 mm). Pada 1.0 dan 0.5 mg/mL, rerata zona kitosan sama dengan atau lebih kecil daripada kontrol pelarut. Oleh karena itu, uji difusi ini

memberikan dukungan terbatas terhadap kontribusi antibakteri kitosan yang terpisah dari efek asam asetat.

Tabel 6. Hasil uji difusi sumuran akhir pada *S. aureus* dan *E. coli*.

Bakteri	Kelompok	Zona hambat, rerata ± SD (mm)
S. aureus	Kitosan 1.5 mg/mL	9.83 ± 0.29
S. aureus	Kitosan 1.0 mg/mL	5.50 ± 0.50
S. aureus	Kitosan 0.5 mg/mL	1.83 ± 0.58
S. aureus	Kloramfenikol 1 mg/mL	18.33 ± 0.58
S. aureus	Asam asetat 1%	5.83 ± 0.29
E. coli	Kitosan 1.5 mg/mL	11.167 ± 3.753
E. coli	Kitosan 1.0 mg/mL	8.167 ± 5.507
E. coli	Kitosan 0.5 mg/mL	3.50 ± 5.058
E. coli	Kloramfenikol 1 mg/mL	22.33 ± 2.887
E. coli	Asam asetat 1%	13.67 ± 5.215



Gambar 4. Cawan uji difusi sumuran *E. coli*. Panel A, B, dan C masing-masing menunjukkan pengujian kitosan 1.5; 1.0; dan 0.5 mg/mL. CS1 dan CS2 = sumuran sampel kitosan; K+ = kontrol positif kloramfenikol 1 mg/mL; AA = kontrol pelarut asam asetat 1%. Gambar merupakan dokumentasi representatif; hasil kuantitatif tiga ulangan teknis disajikan pada Tabel 6.

Interpretasi uji difusi *E. coli* lebih terbatas lagi. Kitosan 1.5 mg/mL menghasilkan zona 11.167 ± 3.753 mm, sedangkan asam asetat 1% menghasilkan 13.67 ± 5.215 mm; pada 1.0 dan 0.5 mg/mL zona kitosan masing-masing 8.167 ± 5.507 dan 3.50 ± 5.058 mm. Karena kontrol pelarut memberikan zona lebih besar daripada semua konsentrasi kitosan, data difusi tidak menunjukkan aktivitas antibakteri tambahan yang dapat diatribusikan secara spesifik kepada kitosan. Simpangan baku yang besar pada pengujian *E. coli* juga menunjukkan variabilitas teknis yang tinggi, sehingga perbedaan kecil antarkelompok tidak boleh ditafsirkan sebagai efek biologis yang pasti.

Perbedaan keluaran uji dilusi dan difusi tidak harus menunjukkan kontradiksi biologis karena kedua metode mengukur hal yang berlainan. Penghitungan koloni setelah kontak dalam medium cair mencerminkan penurunan jumlah sel yang masih mampu membentuk koloni, sedangkan diameter zona hambat pada agar sekaligus dipengaruhi difusi, kelarutan, konsentrasi efektif di sekitar sumuran, dan sifat fisik preparat (Confederat et al., 2021; Ke et al., 2021). Dengan demikian, penurunan jumlah koloni tidak dengan sendirinya menjamin terbentuknya zona hambat yang lebih luas. Selain itu, perbedaan volume sumuran antara dua bakteri dan ketidakpastian konsentrasi akhir asam asetat membatasi perbandingan hasil antarbakteri maupun antarmetode. Khusus pada *E. coli*, zona kontrol asam asetat yang lebih besar daripada seluruh perlakuan kitosan menunjukkan bahwa data difusi belum mendukung adanya efek tambahan yang dapat dipisahkan dari pelarut.

Dibandingkan dengan Alaydrus et al., (2025), yang juga mengevaluasi preparat *P. maxima* terhadap *S. aureus* dan *E. coli*, penelitian ini memberi perhatian lebih khusus pada tingkat HCl saat demineralisasi, tetapi inferensinya dibatasi oleh tidak adanya kontrol pelarut dilusi yang sepadan. Rahayu et al., (2026) melaporkan karakterisasi yang lebih luas, keberadaan mineral residual, dan pengujian antibakteri dengan rancangan serta satuan konsentrasi berbeda. Laporan penghambatan lengkap pada 80 ppm dalam studi tersebut tidak dapat dibandingkan langsung dengan hasil pada konsentrasi akhir terhitung dalam mg/mL di sini karena perbedaan preparat, kemurnian, sistem pengujian, dan kontrol. Oleh sebab itu, temuan sekarang lebih tepat diposisikan sebagai pemetaan eksploratif terhadap variasi HCl dan bukti perlunya kontrol pelarut, bukan sebagai dasar menetapkan kondisi demineralisasi optimum atau mengklaim keunggulan aktivitas antibakteri.

SIMPULAN

Pada kondisi penelitian ini, peningkatan konsentrasi HCl pada tahap demineralisasi disertai penurunan Ca residual pada analisis EDX dan peningkatan estimasi derajat deasetilasi pada analisis FTIR, tetapi kedua kecenderungan berasal dari rangkaian preparasi yang tidak identik dan karena itu bersifat deskriptif. Uji dilusi menunjukkan penurunan jumlah koloni *S. aureus* dan *E. coli* hingga konsentrasi nominal 80 mg/mL (≈7.21 mg/mL akhir terhitung), tetapi KHM dan KBM belum dapat ditetapkan. Kontribusi spesifik kitosan belum dapat dipastikan karena konsentrasi akhir asam asetat pada seri dilusi tidak dapat direkonstruksi secara pasti dan, pada uji difusi *E. coli*, zona hambat asam asetat 1% lebih besar daripada zona kitosan 1.5 mg/mL. Residu Ca sebesar 24.72 at% pada HCl 1.0 M juga menunjukkan demineralisasi belum lengkap. Oleh karena itu, material sebaiknya dipandang sebagai preparat kitosan kaya mineral yang memerlukan karakterisasi dan validasi lanjutan.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram; Laboratorium Fisika Lanjut dan fasilitas analitik terkait; serta Laboratorium Mikrobiologi Pangan, Fakultas Teknologi Pangan dan Agroindustri, Universitas Mataram, atas dukungan fasilitas penelitian. Penelitian ini didanai melalui DIPA BLU Skema Peningkatan Kapasitas Universitas Mataram tahun 2025, nomor 2663/UN18.I1/PP/2025.

REFERENSI

Alaydrus, M., Purnaning, D., Ansyori, M. I., Septiani, N., Alawiyah, G., Rahayu, S., & Taufik, A. (2025). Effectiveness study of chitosan from pearl oyster shells (pinctada maxima sp.) as antibacterial in

bone scaffold application. *Jurnal Biologi Tropis*, *25*(1), 65–71. https://doi.org/10.29303/jbt.v25i1.8135

Confederat, L. G., Tuchilus, C. G., Dragan, M., Sha'at, M., & Dragostin, O. M. (2021). Preparation and Antimicrobial Activity of Chitosan and Its Derivatives: A Concise Review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *26*(12), 1–17. https://doi.org/10.3390/molecules26123694

Gao, M., Tang, H., & Zhu, H. (2024). Advances in extraction, utilization, and development of chitin/chitosan and its derivatives from shrimp shell waste. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* , *23*(5), 1–32. https://doi.org/10.1111/1541-4337.70008

Hosney, A., Ullah, S., & Barčauskaitė, K. (2022). A Review of the Chemical Extraction of Chitosan from Shrimp Wastes and Prediction of Factors Affecting Chitosan Yield by Using an Artificial Neural Network. *Marine Drugs*, *20*(11), 1–19. https://doi.org/10.3390/md20110675

Ke, C. L., Deng, F. S., Chuang, C. Y., & Lin, C. H. (2021). Antimicrobial actions and applications of Chitosan. *Polymers*, *13*(6), 1–21. https://doi.org/10.3390/polym13060904

Kou, S. (Gabriel), Peters, L., & Mucalo, M. (2022). Chitosan: A review of molecular structure, bioactivities and interactions with the human body and micro-organisms. *Carbohydrate Polymers*, *282*, 119132. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119132

Kozma, M., Acharya, B., & Bissessur, R. (2022). Chitin, Chitosan, and Nanochitin: Extraction, Synthesis, and Applications. *Polymers*, *14*(3989), 1–28.

Kurniawidi, D. W., Alawiyah, G., Rahayu, S., Masruroh, Wirawan, R., Destrianingtyas, A. S., Septiani, N., Ardianto, T., & Illahi, R. R. (2024). Modification of Chitosan Isolation Method from Pearl Oyster Shell (Pinctada maxima sp) as A Source of Natural Polymer. *Journal of Physics: Conference Series*, *2866*(1), 1–10. https://doi.org/10.1088/1742-6596/2866/1/012015

Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Kashef Hamadani, B. H., Kumaran, E. A. P., McManigal, B., … Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, *399*(10325), 629–655. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0

Namli, S., Guven, O., Simsek, F. N., Gradišek, A., Sumnu, G., Yener, M. E., & Oztop, M. (2023). Effects of deacetylation degree of chitosan on the structure of aerogels. *International Journal of Biological Macromolecules*, *250*, 1–9. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126123

Nguyen, H. T. T., Tran, T. N., Ha, A. C., & Huynh, P. D. (2022). Impact of Deacetylation Degree on Properties of Chitosan for Formation of Electrosprayed Nanoparticles. *Journal of Nanotechnology*, *2022*, 3–7. https://doi.org/10.1155/2022/2288892

Nurlaili, N., Alaa, S., & Rahayu, S. (2022). Modifikasi Teknik Isolasi Biopolimer Kitosan Dari Cangkang Kerang Mutiara (Pinctada Maxima) Sebagai Adsorben Zat Warna Metilen Blue. *ORBITA: Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Fisika*, *8*(2), 268. https://doi.org/10.31764/orbita.v8i2.11462

Rahayu, S., Masruroh, Santjojo, D. J. D. H., Septiani, N., & Wirawan, R. (2025). Isolation and Characterization of Chitosan from Nacre of the Oyster Pearl Shell (Pinctada Maxima) as Biopolimer. *Journal of Physics: Conference Series*, *2980*(1), 1–11. https://doi.org/10.1088/1742-6596/2980/1/012026

Rahayu, S., Santjojo, D. J. D. H., Wirawan, R., & Masruroh. (2026). Green extraction of chitosan from pinctada maxima shells: Comprehensive physicochemical properties and antibacterial performance for biomedical applications. *European Journal of Materials*, *6*(1), 1–24. https://doi.org/10.1080/26889277.2026.2698190

Sánchez, L. F., Cánepa, J., Kim, S., & Nakamatsu, J. (2021). A simple approach to produce tailor-made chitosans with specific degrees of acetylation and molecular weights. *Polymers*, *13*(15), 1–15. https://doi.org/10.3390/polym13152415

Tissera, W. M. J. C. M., Rathnayake, S. I., Abeyrathne, E. D. N. S., & Nam, K. C. (2021). An improved extraction and purification method for obtaining high-quality chitin and chitosan from blue swimmer (Portunus pelagicus) crab shell waste. *Food Science and Biotechnology*, *30*(13), 1645–1655. https://doi.org/10.1007/s10068-021-01002-x