

Isolation of Chitosan Biopolymer from Nacre (*Pinctada maxima*) as Bone Scaffold Candidate

Ahmad Taufik^{1*}, Geby Alawiyah², Susi Rahayu², Dian W. Kurniawidi², I G.N.Y Handayana², Triyana D. Cahyawati¹, Dyah Purnaning¹, and Muhammad Amin³

¹Program Studi Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia

²Program Studi Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia

³Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

Abstract

The rising incidence of bone injuries necessitates researching and developing safe bone replacement materials. One promising material is chitosan, a biopolymer known for its non-toxic, biocompatible, and biodegradable, making it suitable as a bone scaffold material. This study aimed to analyze the characteristics of chitosan isolated from nacre and the effect of nacre powder mass on its degree of deacetylation. Chitosan was extracted through deproteination, demineralization, and deacetylation processes. The isolated chitosan was tested for organoleptic properties, yield, degree of deacetylation, functional group formation, and vibrational modes using Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy. The obtained chitosan was beige, odorless, and in powder form, with a yield of 3.7% of the nacre powder mass. The chitosan exhibited hydroxyl (OH) and amine (NH₂) groups with characteristic vibrational modes. Variations in nacre powder mass affected the degree of deacetylation and FTIR spectra. Chitosan from 80 grams of nacre powder had the highest deacetylation degree (76.94%). Given its similar functional groups to bone, chitosan holds great potential for bone scaffold applications.

Keywords: Degree of deacetylation, Functional group, Pearl clam shell.

Isolasi Biopolimer Kitosan dari Nacre (*Pinctada maxima*) sebagai Kandidat Scaffold Tulang

Abstrak

Meningkatnya kasus cedera tulang mendorong pengembangan material pengganti tulang yang aman bagi tubuh. Salah satu material yang dapat digunakan yakni biopolimer kitosan. Kitosan dapat digunakan sebagai bahan pembuatan scaffold tulang karena memiliki sifat tidak beracun, biokompatibilitas dan biodegradabilitas. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis karakteristik kitosan hasil isolasi dari *nacre* serta pengaruh massa serbuk *nacre* terhadap derajat deasetilasi kitosan. Kitosan diisolasi dengan tahapan proses deproteinasi, demineralisasi, dan deasetilasi. Karakterisasi kitosan dilakukan dengan uji organoleptik, perhitungan rendemen, analisis derajat deasetilasi, penentuan gugus fungsi, dan mode vibrasi berdasarkan data alat *Fourier Transform Infrared* (FTIR). Hasil penelitian menunjukkan bahwa karakteristik kitosan yang diperoleh berwarna krem, tidak berbau, dan berbentuk serbuk. Adapun rendemen hasil isolasi diperoleh massa kitosan 3,7% dari massa serbuk *nacre*. Kitosan yang dihasilkan membentuk gugus OH dan NH₂ yang merupakan gugus khas kitosan. Perbedaan massa serbuk *nacre* saat proses isolasi mempengaruhi derajat deasetilasi kitosan dan spektrum bilangan gelombang gugus OH dan NH₂. Secara garis besar, nilai derajat deasetilasi terbaik didapatkan pada kitosan dengan massa serbuk *nacre* 80 gram dengan nilai 76,94%. Gugus-gugus fungsi yang terbentuk pada kitosan memiliki kemiripan dengan gugus fungsi pada tulang, sehingga kitosan dapat dijadikan kandidat bahan pembuatan *scaffold tulang*.

Kata Kunci: Cangkang kerang mutiara, Derajat deasetilasi, Gugus fungsi.

Article History:

Submitted 21 January 2023

Revised 31 May 2023

Accepted 02 June 2023

Published 28 February 2025

*Corresponding author:

taufik.unram@gmail.com

Citation:

Taufik, A.; Alawiyah, G.; Rahayu, S.; Kurniawidi D.W.; Handayana, I.G.N.Y.; Cahyawati, T.D.; et al. Isolation of Chitosan Biopolymer from Nacre (*Pinctada maxima*) as Bone Scaffold Candidate. Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology. 2025; 12 (1), 20-26.

1. Pendahuluan

Saat ini pengembangan material alam sebagai sumber biomaterial telah banyak dikembangkan untuk keperluan di bidang medis. Secara umum biomaterial dapat didefinisikan sebagai materi yang dapat mengalami kontak langsung dengan sistem biologis makhluk hidup dan tidak memiliki pengaruh buruk untuk tubuh¹. Salah satu aplikasi biomaterial dalam bidang medis adalah donor tulang atau *bone graft*. Penanganan kasus trauma pada tulang masih menjadi masalah yang terus diteliti. Secara spesifik donor tulang dibutuhkan untuk mengisi bagian tulang yang hilang agar terjadi penyambungan². Regenerasi tulang merupakan faktor yang harus diperhatikan, sehingga diperlukan rancangan struktural *bone graft* yang dapat mendukung regenerasi sel tulang yang dikenal dengan sebutan *scaffold*. Dalam pembuatan *scaffold* jaringan tulang digunakan material alami karena memiliki kesesuaian dengan jaringan tubuh manusia³. Biomaterial yang digunakan sebagai bahan sintesis *scaffold* harus memiliki kesamaan struktur dengan matriks tulang ekstraseluler. Selain itu material yang digunakan harus memiliki sifat *biodegradable*, biokompatibel, dan memiliki sifat mekanik yang baik. Salah satu biomaterial yang dapat dimanfaatkan menjadi *scaffold* adalah kitosan. Kitosan tersusun atas monomer-monomer dengan struktur *poly-D-glucosamine* yang memiliki struktur yang mirip dengan glukosaminoglikan yang merupakan komponen yang paling banyak terdapat pada matriks tulang ekstraseluler^{4,5}.

Kitosan merupakan biopolimer yang memiliki banyak aplikasi baik dibidang medis, lingkungan maupun pangan⁶. Secara umum, karakteristik kitosan yakni berbentuk padatan amorf berwarna putih dengan sifat tidak beracun, biokompatibilitas, biodegradabilitas dan bersifat polikationik dalam suasana asam⁷. Selain itu, kitosan memiliki struktur yang mirip dengan glikosaminoglikan dan kartilago antikulur pada tulang serta kitosan juga dapat meningkatkan perlekatan sel^{1,3}. Kitosan dapat diisolasi dari berbagai cangkang hewan golongan *crustacea*, contohnya yaitu cangkang udang vaname⁸ dan cangkang kerang Mutiara (*Pinctada Maxima*) atau nacre.

Ketersediaan *nacre* cukup banyak di perairan Lombok, Nusa Tenggara Barat (NTB). Pada tahun 2010 hingga 2017 budidaya kerang mutiara menghasilkan lebih dari 350 ton *nacre*⁹. Unsur-unsur kimia penyusunnya antara lain Ca, Mg, Na, P, Fe, Cu, Ni, B, Zn, dan Si¹⁰. Selain itu, *nacre* ini juga tersusun dari kitin, protein, glukoprotein, peptida, lignin dan pigmen¹¹. *Nacre* memiliki persentase jumlah kitin yang cukup tinggi dengan nilai 69,65%¹². Kitosan telah berhasil diisolasi dari cangkang kerang mutiara dengan metode

deasetilasi bertahap sebagai adsorben zat warna¹³. Sedangkan kitosan dengan kemurnian 80534% juga diperoleh dengan mengisolasi *nacre*⁶.

Secara garis besar proses membuat kitosan melalui tiga tahapan yakni deproteinasi, demineralisasi, dan deasetilasi. Pertama, penghilangan kadar protein disebut proses deproteinasi dengan menggunakan larutan NaOH. Kedua, Penghilangan kadar mineral yang berupa CaCO₃ disebut proses demineralisasi dengan menggunakan larutan asam konsentration rendah. Terakhir, Perubahan gugus asetil menjadi gugus amina disebut proses deasetilasi dengan menggunakan larutan asam kuat konsentration tinggi.^{14,15} Terbentuknya kitosan ditandai dengan adanya gugus fungsi OH dan NH₂ pada grafik karakterisasi FTIR. Adapun sifat fisiokimia dan sifat biologis kitosan akan sangat dipengaruhi oleh derajat deasetilasi kitosan.¹⁶ Berdasarkan standar derajat deasetilasi yang telah ditetapkan oleh Badan Standar Nasional yaitu kitosan lebih dari 75% aman digunakan (SNI 7949, 2013). Sedangkan standar derajat deasetilasi kitosan dalam bidang kesehatan yang ditetapkan oleh European Pharmacopeia 6.0 (Eur: Ph 6.0) dan The United States Pharmacopeia 34-NF 29 (USP 34-NF 29) adalah 70%-95% (Eur: Ph 6.0, 2007; USP 34-NF 29, 2011). Sehingga dengan komposisi kitin yang besar menjadikan *nacre* berpotensi sebagai sumber kitosan.

Oleh karena itu, *nacre* memiliki potensi digunakan sebagai biomaterial kandidat *scaffold* tulang. Dimana telah dilakukan beberapa penelitian pendahuluan mengenai potensi *nacre* sebagai sumber kitosan. Sehingga penelitian ini merupakan pengembangan penelitian sebelumnya dengan memvariasikan massa bahan baku serbuk *nacre*. Adapun penelitian-penelitian lain telah meneliti terkait isolasi *nacre* menjadi kitosan dengan variasi konsentrasi NaOH, variasi suhu isolasi, maupun variasi lama pengadukan saat isolasi. Namun, belum ada yang mengaitkan massa bahan baku dengan tingkat kemurnian kitosan yang dihasilkan. Oleh karena itu, optimasi kitosan yang dihasilkan perlu dilakukan dengan menganalisis karakteristik kitosan dari *nacre* dan menganalisis pengaruh massa *nacre* terhadap derajat deasetilasi kitosan. Untuk mendapatkan standar baku yang dibutuhkan sebagai kandidat *scaffold*.

2. Bahan dan Metode

2.1. Alat

Penelitian isolasi kitosan dari *nacre* menggunakan beberapa peralatan mulai dari proses preparasi hingga karakterisasi. Saat proses preparasi, pembuatan serbuk *nacre* dengan grinder (SY-150 Pulp Grinder

Yamamoto, Indonesia) dan miller (FGD-Z100 Fomac, Indonesia). Sedangkan pada proses isolasi menggunakan *magenetic stirrer* dengan *hot plate* (IKA C-MAG HS7, Indonesia) untuk proses homogenasi larutan. Adapun alat karakterisasi yang dipakai yakni *Fourier Transform Infrared* (FTIR) (Perkin-Elmer, USA).

2.2. Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian adalah *nacre* jenis *Pinctada maxima* yang terdapat di perairan NTB. Bahan kimia yang digunakan diantaranya NaOH 60% pro analis (Merck, Jerman), HCl 1 M pro analis (Mallinckrodt, USA), ethanol pro analis (Mallinckrodt, USA), dan kertas saring whatman 42 (PT. Bensara Sukses, Indonesia).

2.3. Prosedur

2.3.1. Tahap Penyiapan Larutan

Isolasi kitosan diawali dengan proses preparasi sampel dimulai dengan pencucian sampel *nacre* hingga bersih dan dibilas menggunakan akuades. Proses selanjutnya mengeringkan *nacre* yang sudah bersih menggunakan suhu 70°C selama 2 jam. *Nacre* kemudian dihancurkan dengan palu untuk memperkecil ukuran. *Nacre* yang telah dihancurkan kemudian digiling dengan *grinder* dan dihaluskan kembali menggunakan *milling* sehingga berbentuk serbuk. Serbuk *nacre* diayak menggunakan ayakan 100 *mesh* agar ukuran serbuk seragam. *Nacre* yang telah dipreparasi kemudian melakukan analisis proksimat untuk mengetahui komposisi kimia dari *nacre*.

Proses isolasi kitosan dilakukan melalui beberapa tahapan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Bahri et al., (2015)). Dalam penelitian ini dilakukan modifikasi pada penggunaan massa serbuk dan suhu pengeringan sampel. Tahap pertama yaitu deproteinasi, pada tahap ini dilakukan variasi massa serbuk sampel yaitu 40 gram (sampel A1), 60 gram (sampel A2), dan 80 gram (sampel A3). Serbuk kitosan dilarutkan dalam NaOH 4% dengan perbandingan 1:10 (w/v) dan diaduk selama 1 jam pada suhu 80°. Kemudian dinetralkan pH nya menggunakan aquades dengan cara dicuci dan disaring. Setelah itu dikeringkan dengan oven pada suhu 80° selama 3 jam dan akan didapatkan hasil berupa serbuk berwarna coklat. Tahap selanjutnya yaitu demineralisasi, serbuk hasil deproteinasi dilarutkan dengan HCl 1 M menggunakan perbandingan 1:15 (w/v) dan diaduk 1 jam. Selanjutnya dinetralkan pH menggunakan aquades. Kemudian dikeringkan dengan oven pada

suhu 80° selama 3 jam dan akan menghasilkan serbuk kitin. Tahap terakhir yaitu deasetilasi, serbuk kitin dilarutkan menggunakan NaOH 60% dengan perbandingan 1:15 (w/v) dan diaduk selama 3 jam pada suhu 120°, selanjutnya dikeringkan dengan oven pada suhu 60° selama 5 jam sehingga menghasilkan serbuk kitosan.

2.3.2. Analisis Data

Komposisi kimia meterial diketahui dengan melakukan analisis proksimat. Analisis proksimat umumnya mengacu pada *Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemist* (AOAC).²¹ Analisis proksimat pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui komposisi kimia serbuk *nacre* yang dianalisis berupa kadar air, kadar lemak, kadar abu, dan kadar protein. Adapun identifikasi penentuan derajat deasetilasi kitosan menggunakan analisis spektroskopi FTIR yang dilakukan dengan cara sampel kitosan dibuat dalam bentuk pelet dengan KBr sehingga membentuk suatu lapisan transparan. Pelet kalium bromida (KBr) merupakan salah metode yang paling banyak digunakan untuk pengujian FTIR.¹⁶ Serapan lapisan transparan kemudian diukur menggunakan FTIR, tercatat puncak tertinggi yang terukur dari garis dasar yang dipilih. Nilai absorbansi dapat dihitung dengan persamaan (1). Perhitungan derajat deasetilasi kitosan diperoleh dari perbandingan absorbansi antara bilangan gelombang 1665 cm⁻¹ yang merupakan serapan pita amina (NH₂) dengan bilangan gelombang 3450 cm⁻¹ yang merupakan gugus hidroksil (OH). Jika kitin terdeasetilasi 100% maka akan menghasilkan nilai absorbansi pada panjang gelombang 1655 cm⁻¹ sebesar 1,33. Perhitungan derajat deasetilasi kitosan dapat dilihat pada persamaan (2) dengan A sebagai absorbansi, r_{P_0} sebagai transmitansi baseline, dan r_P sebagai transmitansi minimum peak.⁷

$$A = \log \log \frac{r_{P_0}}{r_P} \quad (1)$$

$$\%DD = 1 - \left[\frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times \frac{1}{1,33} \right] \times 100\% \quad (2)$$

dengan,

- A = Absorbansi
- r_{P_0} = Transmitansi pada garis dasar (cm)
- r_P = Transmitansi pada puncak minimum (cm)
- A_{1655} = Nilai absorbansi pada 1655cm⁻¹
- A_{3450} = Nilai absorbansi pada 3450 cm⁻¹

Interpretasi gugus fungsi dilakukan dengan mencocokkan spektrum IR yang didapatkan dengan spektrum IR kitosan referensi dari penelitian Handayani et al., (2018), gugus fungsi yang menandai terbentuknya kitosan yaitu OH danNH₂.

Selain analisis FTIR dilakukan juga analisis rendemen

dan organoleptik serbuk kitosan. Pengujian organoleptik pada kitosan dilakukan untuk menentukan kualitas kitosan yang sesuai dengan standar mutu berdasarkan Standar Nasional Indonesia yang meliputi bentuk, warna dan bau dari kitosan (Imtihani & Permatasari, 2020). Analisis rendemen dilakukan untuk mengetahui jumlah produk hasil reaksi kimia. Penentuan rendemen kitosan berdasarkan perbandingan berat kitosan yang dihasilkan terhadap berat awal yang digunakan pada masing-masing proses yang dapat dihitung dengan persamaan (3) (Rachmania, 2011).

$$Yield (\%) = \frac{m_t}{m_o} \times 100\% \quad (3)$$

dengan,

$$\begin{aligned} m_t &= \text{Massa akhir (g)} \\ m_o &= \text{Massa awal (g)} \end{aligned}$$

3. Hasil

Proses isolasi serbuk menjadi kitosan ditunjukkan pada Gambar 1 dan hasil uji organoleptik pada Tabel 1, serta data hasil analisis rendemen kitosan dan rendemen tiap tahapan isolasi dapat dilihat pada Tabel 2.

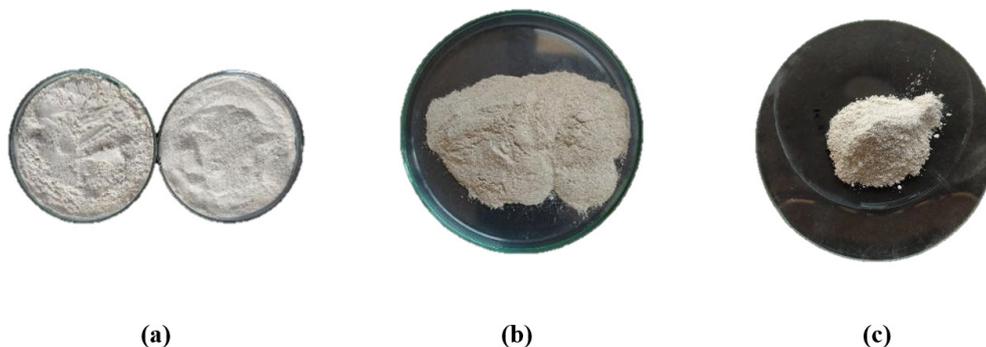
4. Pembahasan

Hasil analisis proksimat serbuk nacre menunjukkan bahwa kadar air bahan sangat rendah. Kadar air yang rendah dengan nilai 0,74%, hal disebabkan oleh proses pengeringan dengan suhu yang tinggi. Proses penepungan juga mempengaruhi kadar air karena panas yang dikeluarkan mesin akibat adanya gesekan dengan nacre. Perbedaan kadar air hasil penelitian dengan literature dapat disebabkan oleh perbedaan proses pengeringan dan penepungan yang dilakukan. Sedangkan jumlah kadar abu pada serbuk tinggi sebesar 90,25%, hal ini menunjukkan kadar mineralnya yang tinggi. Perbedaan persentase kadar abu dapat disebabkan oleh tempat dan proses pembiakan cangkang kerang yang berpengaruh pada konsentrasi mineral yang terkandung menunjukkan kadar mineralnya yang tinggi. Mineral yang terdapat

dalam nacre berupa kalsium karbonat (CaCO_3) yang merupakan kandungan inti nacre. Senyawa kalsium karbonat dapat meningkatkan osteokonduktifitas dalam pembuatan *scaffold* tulang.^{11,23} Selain itu, kadar protein kasar yang terkandung dalam nacre menandakan terdapat matriks organik yang dapat dimanfaatkan dalam pembuatan pengganti tulang. Kandungan protein pada nacre cangkang kerang Mutiara yaitu sebesar 2,79%. Lapisan nacre pada cangkang kerang mengandung matriks organik sebesar 1-5% dan beberapa makromolekul yang termasuk protein dan glikoprotein.²⁴ Selain protein, terdapat juga kandungan lemak sebesar 0,058%.

Hasil analisis proksimat menunjukkan kandungan matriks yang baik sebagai kandidat material *scaffold*. Selain itu, nacre memiliki persentase jumlah kitin yang tinggi dibandingkan golongan *crustacea* lainnya yaitu 69,65%.¹² Dengan komposisi kitin yang besar menjadikan nacre berpotensi sebagai sumber kitosan. Biopolimer kitosan telah berhasil diisolasi dari limbah nacre menggunakan tiga tahapan yaitu deproteinasi, demineralisasi, dan deasetilasi. Setiap tahapan isolasi menghasilkan karakteristik fisik yang berbeda yaitu tahap deproteinasi menghasilkan serbuk berwarna krem, tahap demineralisasi menghasilkan kitin yang berwarna coklat pucat, sedangkan tahap deasetilasi menghasilkan serbuk kitosan berwarna putih tulang. Perbedaan warna pada setiap tahapan ini terjadi karena penggunaan larutan yang berbeda dengan konsentrasi yang berbeda. Hasil kitosan yang didapatkan sesuai dengan yang sudah ditetapkan oleh *European Pharmacopeia* 6.0 (Eur: Ph 6.0) dan BSN, (2013) yaitu kitosan berwarna coklat muda hingga putih. Hasil dari setiap tahapan dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 1.

Isolasi kitosan pada penelitian ini dilakukan dengan variasi massa bahan baku serbuk nacre. Perbedaan massa awal bahan baku mempengaruhi karakteristik kitosan yang dihasilkan yakni rendemen gugus fungsi, dan derajat deasetilasi. Rendemen hasil isolasi kitosan dihitung menggunakan persamaan (3) sehingga menghasilkan data pada Tabel 2. Kitosan



Gambar 1. Hasil isolasi tiap tahapan (a) Deproteinasi (b) Demineralisasi (c) Deasetilasi

Tabel 1. Data organoleptik setiap tahapan isolasi

Parameter Uji	Proses	BSN	Eur: Ph 6.0	Sampel
Warna	Deproteinasi	-	-	Krem
	Demineralisasi	-	-	Coklat pucat
	Deasetilasi	Coklat muda-putih	Putih atau krem	Putih krem-kekuningan
Bau	Deproteinasi	-	-	Sedikit berbau
	Demineralisasi	-	-	Tidak berbau
	Deasetilasi	Tidak berbau	Tidak berbau	Tidak berbau
Bentuk	Deproteinasi	-	-	Serbuk
	Demineralisasi	-	-	Serbuk
	Deasetilasi	Serpihan hingga serbuk	Serbuk	Serbuk

Keterangan: BSN (Badan Standar Nasional), Eur: Ph 6.0 (European Pharmacopeia 6.0)

yang dihasilkan memiliki persentase yang berbeda dari masing-masing sampel dengan persentase rendemen terbesar dihasilkan oleh sampel A3. Terjadi perubahan massa pada setiap tahap isolasi kitosan yang disebabkan oleh penambahan larutan yang digunakan pada setiap tahap. Selain itu, dapat teridentifikasi perubahan rendemen total pada ketiga sampel yang semakin meningkat dari sampel A1, A2, dan A3. Perubahan ini terjadi karena banyaknya massa awal serbuk yang digunakan.

Serbuk kitosan yang berhasil diisolasi dilakukan analisis derajat deasetilasi dan gugus fungsi melalui pengujian menggunakan FTIR. *Scanning* pada proses analisis FTIR dilakukan pada daerah bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} dan didapatkan data spektrum berupa pita serapan yang dinyatakan dengan bilangan gelombang (cm^{-1}) serta persen transmitansi (%T). Berikut grafik data hasil uji FTIR untuk kitosan sampel A2 terlihat pada Gambar 2.

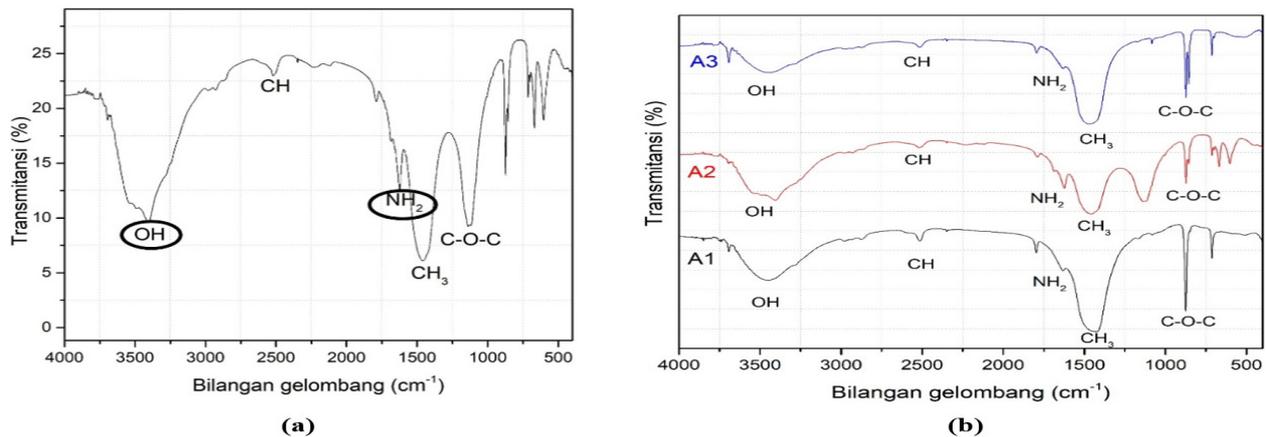
Gambar 2. menunjukkan bahwa kitosan sudah terbentuk ditandai dengan munculnya gugus hidroksil (OH) dan amina (NH_2) yang merupakan spektrum khas kitosan. Kumunculan gugus hidroksil dan amina pada masing-masing sampel dapat dilihat pada Tabel 3. Kitosan diperoleh dengan kemurnian 50.20% berdasarkan perhitungan derajat deasetilasinya. Derajat deasetilasi dari kitosan yang dapat dihitung dengan persamaan (2). Derajat deasetilasi

dipengaruhi oleh nilai bilangan gelombang yang teridentifikasi pada sampel. Tingkat kemurnian yang kurang baik diprediksi karena masih banyaknya mineral CaCO_3 pada hasil isolasi.

Identifikasi sampel kitosan A1, A2 dan A3 (Gambar 2) memiliki perbedaan rentang-rentang spektrum yang terbentuk yang akan mempengaruhi nilai derajat deasetilasi kitosan. Perbedaan rentang spektrum pada ketiga sampel dapat dipengaruhi oleh banyak gugus asetil yang berubah menjadi gugus amina sehingga berpengaruh kepada derajat deasetilasi kitosan. Kitosan dengan derajat deasetilasi yang besar menunjukkan banyaknya gugus asetil kitin yang diubah menjadi gugus amina yang membentuk kitosan.²⁵ Nilai derajat deasetilasi kitosan sampel A1, A2 dan A3 secara berturut-turut adalah 40,59%; 50,20%; dan 76,94%. Peningkatan derajat deasetilasi terjadi seiring dengan peningkatan massa bahan baku serbuk *nacre*. Berdasarkan BSN (SNI 7949, 2013) kitosan sampel A1 dan A2 tidak memenuhi standar hanya kitosan sampel A3 yang memenuhi standar yang telah ditetapkan. Kitosan sampel A3 juga memenuhi standar kitosan yang dapat digunakan pada bidang kesehatan sesuai dengan standar yang ditetapkan oleh *European Pharmacopeia* 6.0 (Eur: Ph 6.0) dan *The United States Pharmacopeian* 34-NF 29 (USP 34-NF 29). Spektrum IR pada ketiga sampel kitosan dapat dilihat pada Gambar 2.

Tabel 2. Data rendemen setiap tahapan isolasi dan total rendemen

Nama sampel	Proses	Massa awal (g)	Massa akhir (g)	Rendemen (%)	Total Rendemen (%)
A1	Deproteinasi	40	36,90	92,25	2,15
	Demineralisasi	36,90	10	27,0	
	Deasetilasi	10	0,86	8,6	
A2	Deproteinasi	60	55,28	92,13	3,70
	Demineralisasi	55,28	20,29	36,70	
	Deasetilasi	20,29	2,22	10,94	
A3	Deproteinasi	80	76,84	96,05	9,26
	Demineralisasi	76,84	27,69	36,03	
	Deasetilasi	27,69	7,41	26,79	



Gambar 2. Analisis kitosan dengan Spektroskopi IR

Berdasarkan Gambar 2. nampak Spektrum IR kitosan yang terbentuk pada ketiga sampel hampir sama. Identifikasi terbentuknya gugus fungsi pada kitosan secara lebih jelas dapat dilihat pada Tabel 3. Dari ketiga sampel, spektrum bilangan gelombang gugus hidroksil dan gugus amina yang paling mendekati referensi yaitu sampel C. Gugus hidroksil (OH) yang terbentuk dari larutan NaOH yang terurai dan dapat mengeliminasi gugus asetil sehingga terbentuk gugus amina (NH₂). Gugus-gugus fungsi yang terkandung dalam kitosan memiliki kemiripan dengan gugus fungsi yang ada pada tulang manusia yaitu pada bagian fasa organik tulang yang mengandung gugus C=O, C-N, C-O-C, dan O-H.³ Namun dapat dilihat terdapat perbedaan kemunculan gugus C-O-C dari sampel A dengan sampel B dan C. hal ini dapat disebabkan oleh pergeseran gugus-gugus fungsi yang muncul sebelum gugus fungsi C-O-C yang diyakini disebabkan oleh hilangnya gugus asetil pada proses deasetilasi.

Masing-masing gugus fungsi memiliki mode vibrasi tersendiri. Mode vibrasi serbuk kitosan yang terbentuk berupa *stretching* dan *bending*. Hasil analisis gugus fungsi dan mode vibrasi yang terbentuk tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan penelitian sebelumnya. Oleh karena itu, kitosan yang diperoleh sudah memenuhi standar baku kitosan yang dapat digunakan dalam bidang medis khususnya sebagai kandidat *bone graft*. Dimana standar kemurnian kitosan pada sampel A3 telah memenuhi syarat standar baku kitosan dalam bidang medis dan sifat fisikokimia lainnya telah memenuhi data literatur.

Tabel 3. Gugus fungsi kitosan hasil penelitian dan literatur

Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)			
	Handayani et al., (2018)	Kitosan A1	Kitosan A2	Kitosan A3
-OH (<i>stretching</i>)	3434,66	3440,18	3410,21	3434,64
-CH (<i>simetri stretching</i>)	2348,00	2531,88	2512,60	2521,18
-NH ₂ (<i>bending</i>)	1626,11	1683,14	1629,96	1628,71
-CH ₃ (<i>simetri stretching</i>)	1466,68	1431,10	1458,34	1465,35
C-O-C (<i>stretching</i>)	1103,85	875,36	1131,44	1083,03

5. Simpulan

Biopolimer kitosan dari *nacre (Pinctada maxima)* telah berhasil diisolasi melalui tiga tahapan. Kitosan dari serbuk *nacre* memiliki ciri berwarna putih-krem dan tidak berbau. Adapun kitosan yang dihasilkan memiliki massa akhir 3,7 % dari massa awal, serta terbentuk gugus fungsi hidroksil dan amina. Selain itu, hasil analisis spektrum menginterpretasikan terjadinya vibrasi *stretching* dan *bending* pada sampel kitosan. Proses isolasi kitosan dengan perbedaan massa serbuk *nacre* mempengaruhi derajat deasetilasi yang diperoleh. Masing-masing sampel dengan perlakuan massa 40 gram, 60 gram, dan 80 gram menghasilkan derajat deasetilasi secara berurut 40,59%; 50,20%; dan 76,94%. Sedangkan perbedaan massa tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap gugus fungsi dan mode vibrasi yang terbentuk. Oleh karena itu, kitosan sampel A3 memiliki potensi untuk dijadikan kandidat *scaffold* tulang. Hal tersebut karena memiliki gugus fungsi yang sesuai dengan gugus fungsi yang terdapat dalam tulang manusia dan derajat deasetilasi yang memenuhi standar penggunaan di bidang medis.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini merupakan penelitian rintisan kerjasama antara fakultas MIPA dengan fakultas Kedokteran Universitas Mataram. Sumber pendanaan berasal dari dana DIPA BLU skema Penelitian Penugasan PT Universitas Mataram dengan no kontrak 1265/UN18. L1/PP/2022.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa data yang dipublikasikan pada naskah ini tidak ada konflik kepentingan terhadap pihak manapun.

Referensi

1. Jennings JA, Bumgardner JD. Chitosan Based Biomaterials Volume 2: Tissue Engineering and Therapeutics [Internet]. Cambridge: Elsevier; 2017. 1–296 p. Available from: www.elsevier.com/permissions.
2. Taufik A, Zuhan A, Kusdaryono S, Rohadi. Karakterisasi Hydroxyapatite Alami yang Dibuat dari Tulang Sapi dan Cangkang Telur sebagai Bahan untuk Donor Tulang (Bone Graft). Unram Med J. 2017;6(1):9–13.
3. Milla L El, Indrani DJ, Ilmu D, Kedokteran M, Gigi FK, Brawijaya U, et al. Hidroksiapatit , Alginat dan Kitosan Sebagai Bahan Scaffold Tulang : Studi Spektroskopi. Dentika Dent J. 2016;19(2):93–7.
4. Nurakhmawati I. Sintesis dan Karakterisasi Scaffold Kitosan-Tetrasiklin yang Diiradiasi Gamma sebagai Pengganti Jaringan Tulang Gigi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah; 2017.
5. R. Fitria. Scaffold 3D Kitosan dan Kolagen sebagai Graft Pada Kasus Kerusakan Tulang (Study Pustaka). 2016;5(2):1–7.
6. Handayani D, Alaa S, Kurniawidi DW, Rahayu S. Pengolahan Limbah Cangkang Kerang Mutiara (Pinctada Maxima) Sebagai Adsorben Logam Berat Fe. J Pertamb dan Ligkungan. 2022;3(2):10–5.
7. Sugita P, Wukirsari T, Sjahriza A, Wahyono D. Kitosan: Sumber Biomaterial Masa Depan [Internet]. PT Penerbit IPB Press; 2019. 176 p. Available from: <https://books.google.co.id/books?id=XzMSEAAAQBAJ>
8. Kurniawidi DW, Alaa S, Nurhaliza E, Safitri DO, Rahayu S, Ali M, et al. Synthesis and Characterization of Nano Chitosan from Vannamei Shrimp Shell (Litopenaeus vannamei). J Ilm Perikan Dan Kelaut. 2022;14(2):95–105.
9. Masnun MA. Menakar Potensi Perlindungan Hukum Mutiara Lombok Melalui Indikasi Geografis dan Implikasinya: Sebuah Diagnosa Awal. Pena Justisia Media Komun dan Kaji Huk. 2017;17(2):29–40.
10. Oktawati S, Mappangara S, Chandra H, Achmad H, Raoda S, Ramadhan J, et al. Effectiveness Nacre Pearl Shell (Pinctada Maxima) as Bone Graft for Periodontal Bone Remodeling. Ann RSCB [Internet]. 2021;25(3):8663–78. Available from: <http://annalsofscrb.ro>
11. Wahyuningsih K, Jumeri J, Wagiman W. Green Catalysts Activities of CaO Nanoparticles from Pinctada maxima Shell on Alcoholysis Reaction. EKSAKTA J Sci Data Anal. 2018;18:121–36.
12. Alabaraoye E, Achilonu M, Hester R. Biopolymer (Chitin) from Various Marine Seashell Wastes: Isolation and Characterization. J Polym Environ [Internet]. 2018;26(6):2207–18. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10924-017-1118-y>
13. Nurlaili, Alaa S, Rahayu S. Modifikasi Teknik Isolasi Biopolimer Kitosan Dari Cangkang Kerang Mutiara (Pinctada Maxima) Sebagai Adsorben Zat Warna Metilen Blue. ORBITA J Kajian, Inov dan Apl Pendidik Fis. 2022;8(2):268–73.
14. Imtihani HN, Permatasari SN. Sintesis dan Karakterisasi Kitosan dari Limbah Kulit Udang Kaki Putih (Litopenaeus vannamei). Simbiosis. 2020;9(2):129–37.
15. Yadav M, Goswami P, Paritosh K, Kumar M, Pareek N, Vivekanand V. Seafood Waste: A Source for Preparation of Commercially Employable Chitin/Chitosan Materials. Bioresour Bioprocess [Internet]. 2019;6(1):1–20. Available from: <https://doi.org/10.1186/s40643-019-0243-y>
16. Setiabudi A, Hardian R, Muzakir A. Karakterisasi Material: Prinsip dan Aplikasinya dalam Penelitian Kimia. Vol. 1, UPI Press. 2012. 37–39 p.
17. Nasional BS. Kitosan - Syarat Muti dan Pengolahan. SNI 7949:2013. Jakarta; 2013.
18. The United States Pharmacopeia. Second Supplement The United States Pharmacopeial Convention. Rockville, MD, USA: The United States Pharmacopeia; 2011. p. 5361–5.
19. Pharmacopeia TE. 6th ed. Volume 2. Council of Europe. Vol. 2. Strasburg, France: The European Pharmacopeia; 2007. p. 1490–1491.
20. Bahri S, Rahim EA, Syarifuddin. Chitosan Deacetylation Degree from Anadara granosa by Gradually Adding NaOH. Kovalen J Ris Kim. 2015;1(1):36–42.
21. Sjojfan O, Natsir MH, Chuzaemi S. Ilmu Nutrisi Ternak Dasar [Internet]. Malang: Universitas Brawijaya Press; 2019. 1–169 p. Available from: <https://books.google.co.id/books?id=PQDcDwAAQBAJ>
22. Rachmania D. Karakterisasi Nano Kitosan Cangkang Udang Vannamei (Litopenaeus vannamei) dengan Metode Gelasi Ionik. Institut Pertanian Bogor; 2011.
23. Dwipa G. Efektivitas Bone Graft yang Mengandung Cangkang Kerang Mutiara (Pinctada Maxima) terhadap Regenerasi Tulang melalui Analisis Ekspresi Osteoprotegerin (OPG). UNIVERSITAS HASANUDDIN; 2022.
24. Yao Z, Xia M, Li H, Chen T, Ye Y, Zheng H. Bivalve Shell: Not an Abundant Useless Waste but a Functional and Versatile Biomaterial. Crit Rev Environ Sci Technol [Internet]. 2014;44(22):2502–30. Available from: <https://doi.org/10.1080/10643389.2013.829763>
25. Pebiansyah A, Yuliana A. Aktivitas Antibakteri Kitosan dari Cangkang Lobster Air Tawar (Cherax quadricarinatus) terhadap Staphylococcus aureus. In: Seminar Nasional Diseminasi Penelitian Program Studi S1 Farmasi 2021 STIKes BTH Tasikmlaya Tema: “Kontribusi Riset Farmasi di Masa Pandemi” [Internet]. Tasikmalaya: Jakad Media Publishing; 2021. p. 70–6. Available from: <https://books.google.co.id/books?id=-R9YEAAAQBAJ>