



Studi Pemodelan dan Prediksi Aktivitas Antibakteri Biopolimer Kitosan Menggunakan Response Surface Methodology (RSM)

Halil Akhyar^{1*}, Selvira Anandia Intan Maulidya², Muhammad Mukaddam Alaydrus³, Maz Isa Ansyori³, Mohammad Zaenuddin Hamidi¹, I Gede Pasek Suta Wijaya¹, Ramaditia Dwiyanaputra¹, Pahrul Irfan¹

¹ Program Studi Teknik Informatika, Universitas Mataram, Indonesia

² Program Studi Farmasi, Universitas Mataram, Indonesia

³ Program Studi Kedokteran, Universitas Mataram, Indonesia

* Korespondensi: halil.akhyar@staff.unram.ac.id

Sitasi: Akhyar, H.; Maulidya, S. A. I.; Alaydrus, M. M.; Ansyori, M. I.; Hamidi, M. Z.; Wijaya, I. G. P. S.; Dwiyanaputra, R., Irfan, P. (2025). Studi Pemodelan dan Prediksi Aktivitas Antibakteri Biopolimer Kitosan Menggunakan Response Surface Methodology (RSM). JTIM: Jurnal Teknologi Informasi Dan Multimedia, 7(2), 352-362. <https://doi.org/10.35746/jtim.v7i2.713>

Diterima: 10-02-2025

Direvisi: 09-04-2025

Disetujui: 22-04-2025



Copyright: © 2025 oleh para penulis. Karya ini dilisensikan di bawah Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License. (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).

Abstract: Infections occurred in the human are mostly caused by uncontrolled growth of *Staphylococcus aureus* bacteria. A strategy to inhibit bacterial growth can use antibacterial agents such as chitosan. The mechanism of the effectiveness of chitosan as an antibacterial is quite complex, even the data on its antibacterial activity is quite fluctuating so that it is difficult to analyze accurately and efficiently. Therefore, the purpose of the study was to predict the inhibition zone of *s.aureus* bacteria through laboratory experiments combined with modeling using the Central Composite Design (CCD) approach. The research was carried out with two main stages, including chitosan isolation and calculation of bacterial inhibition zones. The production of chitosan leverages the microwave isolation and FTIR to examine for the degree of deacetylation and its functional group using. Furthermore, the antibacterial activity of chitosan biopolymer was tested using the diffusion method combined with modeling using the RSM CCD approach. The results showed that chitosan from oyster shell was obtained by DD of 83.29% and the emergence of typical chitosan groups, such as amine (NH₂) and hydroxyl (OH). Chitosan can hamper the growth of *s. aureus* bacteria with an inhibition zone of up to 0.40 mm. The experimental data were combined with computational modeling obtained the values of the determination coefficient R² = 0.6083. The modeling was assessed by p-value of < 0.0001 and F-value of 13.46. Statistically, the obtained model is relevant to the relationship between the number of bacterial colonies and the concentration of chitosan solution with the bacterial inhibition zone. Based on numerical analysis and modeling, the predicted values of the number of *s. aureus* bacterial colonies and chitosan concentrations were 550,000 CFU/ml and 42.5%. Therefore, Pearl shells can be isolated into chitosan, as well as chitosan has the potential to be a good antibacterial agent. The model has good prediction performance, but it requires to increase the number of point spreads and it is necessary to validate the prediction results to obtain actual predictions.

Keywords: *Central Composite Design, Microwave Isolation, Staphylococcus Aureus*

Abstrak: Kasus infeksi yang terjadi pada tubuh manusia sebagian besar disebabkan oleh pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang tidak terkontrol. Salah satu strategi menghambat pertumbuhan bakteri dapat menggunakan agen antibakteri seperti kitosan. Mekanisme efektivitas kitosan sebagai antibakteri cukup kompleks, bahkan data aktivitas antibakterinya cukup fluktuatif sehingga sulit teranalisis secara tepat dan efisien. Oleh karena itu, tujuan penelitian untuk memprediksi zona hambat bakteri *s.aureus* melalui eksperimen laboratorium dikombinasi dengan pemodelan menggunakan pendekatan *Central Composite Design* (CCD). Penelitian dilakukan dengan dua tahapan utama yaitu isolasi kitosan dan perhitungan zona hambat bakteri. Produksi kitosan menggunakan metode isolasi microwave serta dapat dianalisis derajat deasetilasi dan gugus fungsinya menggunakan FTIR. Selanjutnya, pengujian aktivitas antibakteri biopolimer ki-

tosan menggunakan metode difusi dikombinasi dengan pemodelan menggunakan RSM pendekatan CCD. Hasil analisis menunjukkan bahwa kitosan dari cangkang kerang diperoleh DD sebesar 83,29% dan munculnya gugus khas kitosan yakni gugus amina (NH_2) dan gugus hidroksil (OH). Kitosan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *s.aureus* dengan zona hambat hingga 0,40 mm. Data eksperimen dikombinasikan dengan pemodelan komputasi memperoleh nilai koefisien determinasi $R^2 = 0,6083$. Pemodelan terevaluasi secara statistik $p\text{-value} < 0,0001$ dan $F\text{-value}$ sebesar 13,46. Model yang dihasilkan relevan terhadap hubungan jumlah koloni bakteri dan konsentrasi larutan kitosan dengan zona hambat bakteri. Berdasarkan analisis statistik dan pemodelan, nilai prediksi jumlah koloni bakteri *s.aureus* dan konsentrasi kitosan yaitu 550.000 CFU/ml dan 42,5%. Oleh karena itu, cangkang kerang Mutiara dapat diisolasi menjadi kitosan, serta kitosan berpotensi sebagai agen antibakteri yang baik. Adapun model memiliki kinerja prediksi yang baik namun perlu penambahan jumlah penyebaran titik serta perlu dilakukan validasi hasil prediksi untuk memperoleh prediksi yang actual.

Kata kunci: Central Composite Design, Isolasi Microwave, *Staphylococcus Aureus*

1. Pendahuluan

Kitosan adalah salah satu biopolymer yang memiliki potensi sebagai agen antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bahkan membunuh bakteri penyebab infeksi. *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* merupakan bakteri gram positif dan gram negative yang sering menjadi penyebab utama infeksi pada tubuh manusia. Aktivitas antibakteri dari biopolymer kitosan biasanya dipengaruhi oleh berbagai faktor intrinsik dan ekstrinsiknya, seperti pH, konsentrasi, sumber kitosan, tipe bakteri, derajat deasetilasi (DD), dan derajat polimerisasi [1]. Biopolimer kitosan yang diekstraksi dari sumber bahan alam yang berbeda biasanya menghasilkan karakteristik yang berbeda. Berbagai sumber yang telah banyak diteliti diantaranya cangkang udang dan cangkang kerang Mutiara (*Pinctada maxima* sp) [2] [3] [4]. Penggunaan cangkang kerang Mutiara sebagai sumber biopolymer kitosan untuk aplikasi medis telah banyak diteliti dan diperoleh karakteristik sesuai standar medis dengan $\text{DD} > 75\%$. Hasil penelitian isolasi kitosan dari cangkang kerang Mutiara menggunakan berbagai metode memperoleh $\text{DD} > 80\%$ [5][6] [7]. Kitosan memiliki aplikasi biomedis yang luas yakni penyembuh luka, rekayasa jaringan, penghantaran obat, pengikat protein, dan antibakteri [8]. Efektivitas kitosan sebagai antibakteri telah mampu menghambat pertumbuhan bakteri seperti *staphylococcus aureus*, *bacillus thuringiensis*, *brkholderia pseudoallei*, *mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *vibrio cholerae*, *pseudomonas aeruginosa*, dan *staphylococcus epidermidis* [9]. Selain itu, efektivitas kitosan dari cangkang kerang Mutiara (*Pinctada maxima* sp) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* [10].

Efektivitas kitosan dalam menghambat pertumbuhan bakteri biasanya terjadi melalui tiga mekanisme yaitu (1) interaksi elektrostatis antara kitosan kationik dan molekul anionik pada dinding sel bakteri yang menyebabkan kebocoran komponen intraselular, (2) penetrasi kitosan dengan berat molekul rendah ke dalam membran sel sehingga mengganggu sintesis protein melalui interaksi dengan DNA, serta (3) pengikatan nutrisi dan logam esensial yang penting bagi stabilitas sel [11]. Mekanisme ini akan mempengaruhi hasil eksperimen pengujian antibakteri, bahkan sering terjadi hasil dengan data eksperimen yang fluktuatif sehingga relatif sulit teranalisis secara tepat. Oleh karena itu, optimasi dan pemodelan aktivitas antibakteri menggunakan pendekatan komputasi perlu dilakukan untuk mengurangi pengulangan eksperimen serta memperoleh keakuratan data pengukuran. Salah satu pendekatannya yaitu menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM).

Penerapan RSM dalam berbagai penelitian terkait optimasi dan pemodelan kondisi proses telah banyak diteliti secara berkelanjutan. Optimalisasi kondisi ekstraksi memanfaatkan microwave menggunakan metode RSM dengan pendekatan Box Behnken Design (BBD) sangat efektif dan efisien dalam memperoleh polifenol total dari daun

Kadamba [12]. Selain itu, kondisi optimum proses ekstraksi kalsium dari tulang lele dapat ditentukan menggunakan desain factorial dari RSM [13]. Penerapan RSM dalam optimasi kondisi proses ekstraksi antosianin berdasarkan desain BBD dapat mengoptimasi ukuran partikel, rasio bahan, dan waktu ekstraksi [14]. Melalui RSM, pemodelan kondisi proses hidrodisitilasi minyak atsiri menggunakan pendekatan *Central Composite Design* (CCD) menghasilkan waktu penyulingan yang optimum pada 6 jam [15]. Penelitian- penelitian ini membuktikan bahwa RSM baik digunakan sebagai tools dalam mengoptimasi dan memodelkan kondisi suatu proses. Proses lain yang juga dapat di optimasi dan dimodelkan yaitu aktivitas antibakteri. Metode ini memungkinkan analisis pengaruh interaksi variable terhadap zona hambat bakteri. Studi terbaru menunjukkan bahwa zona hambat antibakteri berbasis material kitosan berhasil dimodelkan dengan pendekatan CCD. Model yang dihasilkan memiliki F-Value 27,31 untuk bakteri *pseudomonas aeruginosa* dan 38,31 untuk *S.aureus*, serta menunjukkan kecukupan model yang baik dengan nilai koefisien determinasi (R^2) masing-masing sebesar 0,9435 dan 0,94352 [16]. Berdasarkan kondisi tersebut, kitosan hasil ekstraksi dari cangkang kerang Mutiara (*Pinctada maxima sp*) memiliki potensi besar sebagai agen antibakteri sehingga penting dilakukan pemodelan dan prediksi kondisi proses aktivitas antibakteri *S.aureus* dengan pendekatan CCD menggunakan RSM. Hal ini tentunya akan memberikan dampak pada efisiensi waktu dan biaya penelitian.

2. Bahan dan Metode

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian diantaranya Cangkang Kerang Mutiara (*Pinctada maxima sp*) dari hasil budidaya di perairan Sekotong Nusa Tenggara Barat. Adapun bahan-bahan yang digunakan untuk proses isolasi kitosan yaitu NaOH pro analis (Merck, Germany), HCl 1 M pro analis (Mallinckrodt, USA), dan aquadest. Selain bahan, dalam proses isolasi juga membutuhkan beberapa peralatan seperti grinder, magnetic stirrer, oven, dan microwave. Kemudian beberapa tools yang dimanfaatkan dalam menganalisis data yaitu Origin 8.5.1 dan Design Expert 13.

Metode pembuatan kitosan dari cangkang kerang Mutiara memanfaatkan microwave pada proses deasetilasi untuk mempercepat reaksi kimianya. Proses awal yaitu cangkang kerang dibersihkan dan dikecilkan ukurannya menjadi serbuk menggunakan grinder. Serbuk cangkang diisolasi dengan empat tahapan yakni demineralisasi, deproteinasi, decolorisasi, dan deasetilasi. Demineralisasi dimulai dengan melarutkan 80 g serbuk cangkang dalam larutan HCl 1 M dengan rasio 1 : 15 (m/v). Serbuk hasil demineralisasi selanjutnya dilarutkan dalam NaOH dengan rasio 1 : 10 (m/v) pada suhu 80°C sehingga dihasilkan serbuk kitin. Kitin dipigmensasi warnanya dengan metode decolorisasi menggunakan larutan NaOCl 0,5% pada suhu 75°C selama 1 jam. Serbuk yang dihasilkan selanjutnya dimodifikasi menjadi kitosan menggunakan metode deasetilasi yakni melarutkan kitin menggunakan NaOH 60% dengan microwave selama 15 menit. Metode isolasi ini mengadopsi metode isolasi kitosan dari cangkang kerang Mutiara yang telah dilakukan alaydrus dkk, 2025.

Kitosan hasil isolasi dianalisis kemurnian (derajat deasetilasi) melalui karakterisasi menggunakan *fourier transform infrared spectroscopy* (FTIR). Hasil analisis berupa gugus fungsi dan derajat deasetilasi (DD) yang mengindikasikan kualitas kitosan yang diperoleh. DD kitosan dapat diperoleh melalui perbandingan nilai absorbansi antara gugus amina (NH_2) pada panjang gelombang 1655 cm^{-1} (A_{1655}) dengan absorbansi gugus hidroksil (OH) pada panjang gelombang 3450 cm^{-1} (A_{3450}) [6]. Kemunculan gugus amina dan hidroksil merupakan ciri khas terbentuknya senyawa kitosan.

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

Biopolimer kitosan diuji aktivitas antibakterinya menggunakan metode difusi yang merupakan adopsi dari metode yang dilakukan oleh Alaydrus dkk, 2025. Sebanyak 10mL media Nutrient Agar (NA) dituangkan pada cawan petri sebagai lapisan pertama. Media dibiarkan hingga mengeras kemudian dituangkan kembali media NA 10 mL yang di dalamnya terdapat bakteri. Dalam penelitian ini menggunakan dua jenis bakteri yaitu *S.aureus* dan *E.coli*. Media yang telah berisi NA dan bakteri didiamkan hingga NA mengeras dan bakteri berdifusi di dalam laminar air flow selama dua jam. Cawan petri dikeluarkan hingga membentuk sumur-sumur bakteri berukuran 6 mm. Selanjutnya larutan biopolimer kitosan dituangkan pada sumur-sumur tersebut dan dimasukkan ke dalam incubator selama 3 x 24 jam. Hasilnya diamati zona bening yang terbentuk sebagai indikator zona hambat bakteri. Perhitungan zona hambat diukur berdasarkan pengukuran jari-jari tepi sumur ke batas tepi zona bening.

$$D = \frac{d_1 + d_2}{2} \quad (2)$$

Diameter zona bening (D) merupakan penjumlahan antara diameter pada sisi vertical (d_1) dengan sisi horizontal (d_2). Diameter zona bening akan ditransformasi ke dalam diameter zona hambat yang diperoleh dari hasil pengurangan diameter zona bening dengan diameter sumur. Hasil zona hambat bakteri *s.aureus* berdasarkan eksperimen dikombinasikan dengan pemodelan komputasi sehingga dapat memprediksi parameter optimal mengaplikasikan kitosan sebagai antibakteri.

Desain percobaan yang dilakukan baik secara eksperimental maupun simulasi komputasi yaitu parameter jumlah koloni bakteri *s.aureus* dan konsentrasi kitosan sebagai parameter bebasnya. Dalam penelitian ini menggunakan jumlah koloni bakteri 100.000 CFU/mL dan 1.000.000 CFU/mL, sedangkan konsentrasi kitosan menggunakan 5%, 10%, 20%, 40%, dan 80%. Perhitungan prediksi zona hambat bakteri secara komputasi dengan memanfaatkan software tool *Design Expert* yang menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM) dengan pendekatan *Central Composite Design* (CCD). Prediksi diperoleh melalui evaluasi pemodelan dan analisis statistik sehingga diperoleh optimasi proses simulasi.

Langkah pertama adalah menghitung koefisien determinasi (R^2) untuk mengetahui sejauh mana model dapat menjelaskan variabilitas data. Nilai R^2 yang tinggi (lebih dari 0,9) menunjukkan bahwa model memiliki kecocokan yang baik dengan data eksperimen [17]. Selain itu, dilakukan analisis nilai *Adjusted R²* dan *Predicted R²* untuk memastikan bahwa model tidak mengalami overfitting. Jika terdapat perbedaan yang besar antara *Adjusted R²* dan *Predicted R²*, maka model kemungkinan besar kurang dapat memprediksi dengan baik di luar rentang data eksperimen. Nilai perbedaan antara *Adjusted R²* dan *Predicted R²* harus lebih kecil dari 0,2 untuk memperoleh hasil prediksi yang optimal dan tidak overfitting[19].

$$R^2 = \frac{SSM}{SST} \quad (3)$$

$$Adjusted R^2 = 1 - \left(\frac{SSE/dfE}{SSE/dfE} \right) \quad (4)$$

$$Predicted R^2 = 1 - \left(\frac{PRESS}{SST} \right) \quad (5)$$

Nilai SST atau Total Sum of Squares merupakan total variasi dalam data terhadap rata-rata keseluruhan yang menunjukkan seberapa jauh setiap pengamatan menyimpang dari rata-rata. Selain itu, SSM atau Sum of Squares for Model atau Regression yang mengukur variasi yang dapat dijelaskan oleh model yang digunakan. Hal ini menunjukkan seberapa baik model dapat menjelaskan perubahan dalam data. Kemudian, SSE adalah Sum of Squares for Error atau Residuals yang mengukur variasi yang tidak dapat dijelaskan oleh model, yaitu perbedaan antara nilai aktual dan nilai yang diprediksi oleh

model. Sedangkan, Derajat kebebasan error (dfE) adalah jumlah observasi independen yang tersisa setelah model memperhitungkan faktor-faktor yang digunakan untuk menjelaskan variasi dalam data. Dalam Response Surface Methodology (RSM) dan Analisis Varians (ANOVA), dfE digunakan untuk menghitung Mean Square Error (MSE) dan F-value, yang kemudian digunakan untuk menentukan signifikansi model. Secara umum, semakin besar dfE , semakin akurat estimasi error yang diperoleh [17].

Langkah selanjutnya yaitu analisis interaksi antar faktor menggunakan *contour plots* dan *response surface plots*. *Contour plot* membantu dalam memahami bagaimana dua faktor berinteraksi dan mempengaruhi target, sementara *response surface plot* memberikan visualisasi tiga dimensi untuk memahami hubungan kuadratik antara variabel. Disamping itu juga, dengan melihat pola grafik, dapat mengidentifikasi kondisi optimal yang menghasilkan aktivitas antibakteri paling optimal dari kitosan. Jika pola grafik menunjukkan puncak atau lembah yang jelas, maka terdapat kemungkinan besar bahwa model dapat digunakan untuk optimasi [17], [19]. Berikut persamaan untuk menentukan titik optimal dari kombinasi faktor yang diuji.

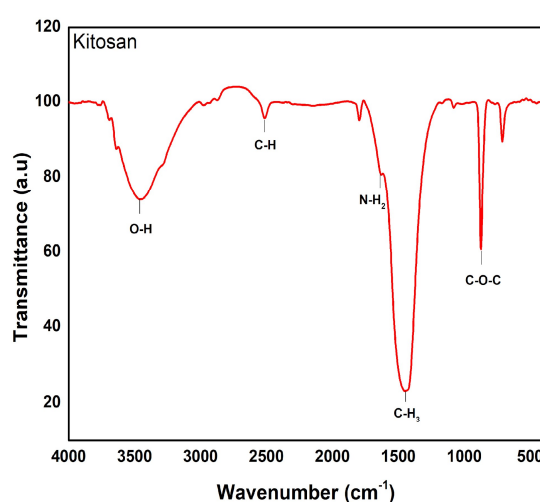
$$\frac{\partial Y}{\partial X_i} = \beta_i + 2\beta_{ii}X_i + \sum \beta_{ij}X_j = 0 \quad (6)$$

Setelah itu, dilakukan pengujian validitas model dengan membandingkan hasil eksperimen aktual dengan hasil prediksi yang diperoleh dari model matematis. Eksperimen tambahan dilakukan dengan menggunakan *kombinasi* variabel yang berada di sekitar titik optimal yang diperoleh dari model. Hasil eksperimen ini dibandingkan dengan prediksi model, dan jika selisihnya kecil, maka model dianggap valid [17], [19].

3. Hasil

3.1. Senyawa Biopolimer Kitosan

Sebuk kitosan telah berhasil diproduksi menggunakan metode isolasi dengan microwave. Terbentuknya senyawa kitosan dikonfirmasi melalui analisis FTIR dengan meninjau gugus fungsi yang terdeteksi (Gambar 1).

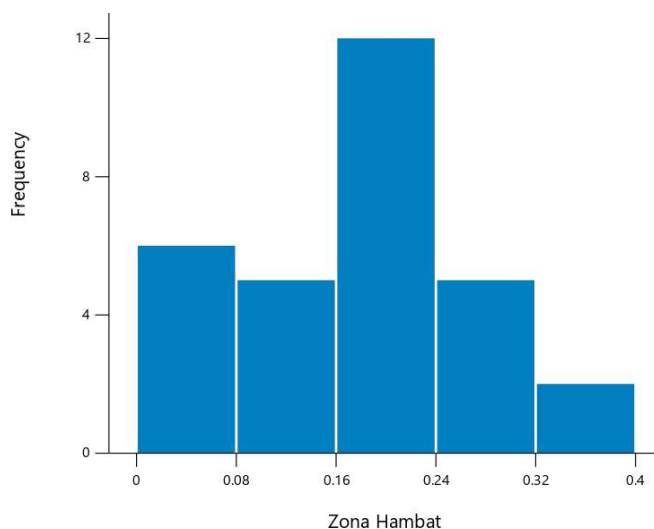


Gambar 1. Analisis Spektrum IR Senyawa Biopolymer Kitosan menggunakan software origin pro

Spektrum IR yang diperoleh menunjukkan kemunculan gugus fungsi khas senyawa kitosan yaitu gugus amina (NH_2) pada panjang gelombang $1630,93 \text{ cm}^{-1}$ dan gugus hidroksil (OH) pada panjang gelombang $3458,39 \text{ cm}^{-1}$. Berdasarkan hasil analisis tersebut,

dapat dihitung nilai DD menggunakan persamaan 1. Perhitungan DD diperoleh bahwa DD senyawa kitosan hasil isolasi yakni 83,29%.

Senyawa biopolimer kitosan memiliki kemampuan sebagai antibakteri terhadap bakteri *S.aureus*. Pengujian zona hambat antibakteri senyawa biopolymer kitosan telah dilakukan sebanyak 30 kali percobaan dengan variasi parameter jumlah koloni bakteri (100.000 CFU/ml dan 1.000.000 CFU/ml) dan konsentrasi larutan kitosan (5%, 10%, 20%, 40%, dan 80%) (gambar 2).

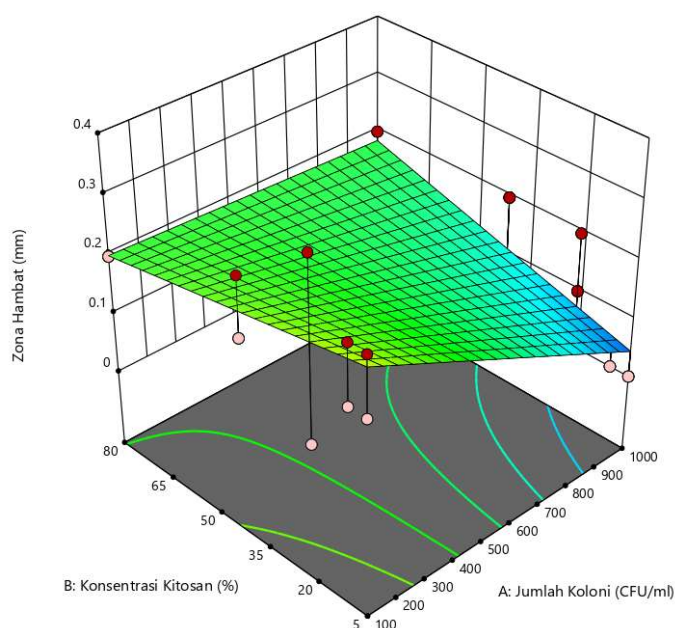


Gambar 2. Zona Hambat Bakteri *S.aureus* terhadap senyawa kitosan menggunakan software Design Expert

Dari 30 kali percobaan, nilai zona hambat tertinggi sekitar 0,32-0,40 mm dan nilai zona hambat yang sering muncul dalam rentang 0,16-0,24 mm.s

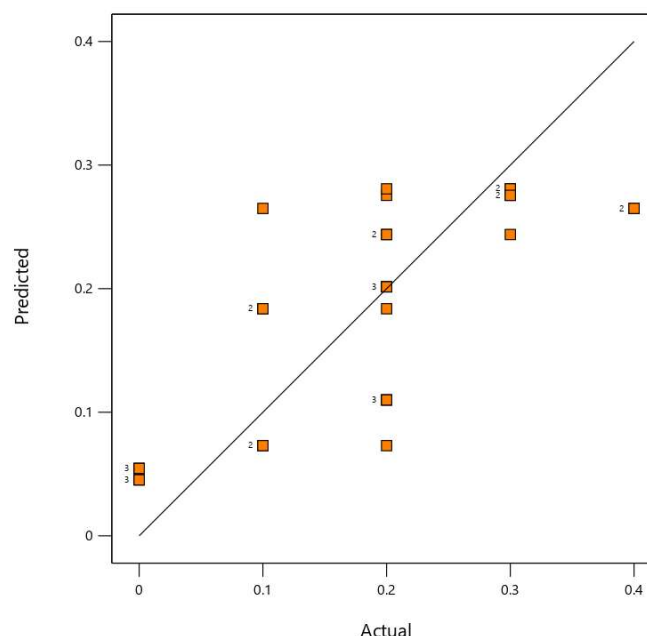
3.2. Response Surface Methodology (RSM)

Hasil percobaan (gambar 2) menunjukkan hasil yang fluktuatif dan sulit menarik kesimpulan pasti terkait kemampuan kitosan sebagai antibakteri. Secara komputasi dapat dioptimalkan hasil eksperimen melalui pemodelan menggunakan metode *response surface methodology* (RSM) dengan pendekatan *Central Composite Design* (CCD) (Gambar 3).



Gambar 3. Pemodelan Response Fitted Surface Variabel Jumlah Koloni dan Konsentrasi Kitosan Terhadap Zona Hambat Bakteri *S.aureus* menggunakan software Design Expert

Pemodelan dengan pendekatan CCD teranalisis koefisien determinasi dalam bentuk R^2 , Adjusted R^2 , dan predicted R^2 . Secara statistik melalui pemodelan terevaluasi nilai p -value $< 0,0001$ dan F -value sebesar 13,46. Berdasarkan eksperimen yang telah dilakukan dihasilkan nilai R^2 adalah 0,6083 yang menunjukkan model cukup mampu menjelaskan hubungan antara variabel independen (konsentrasi kitosan dan jumlah koloni) dengan variabel respon (zona hambat). Selain itu, teridentifikasi nilai koefisien adjusted R^2 yaitu 56,31% yang berkorelasi dengan penyesuaian untuk menghitung jumlah variabel dalam model. Adapun nilai lain yang teranalisis yakni nilai predicted R^2 sebesar 50,53%. Korelasi antara zona hambat hasil eksperimen dengan hasil prediksi dari pemodelan dapat mengevaluasi kinerja model, kekuatan prediksi, dan potensi galat (gambar 4). Korelasi grafik sumbu X dan Y merefleksikan kemampuan model untuk memprediksi nilai sebenarnya. Nilai prediksi jumlah koloni dan konsentrasi yang dapat disarankan agar zona hambatnya optimal yaitu 550.000 CFU/ml dan 42,5%.



Gambar 4. Grafik Hubungan Data Eksperimen dengan Prediksi Zona Hambat Bakteri *S.aureus* menggunakan software Design Expert

Berdasarkan hasil analisis pemodelan menggunakan pendekatan CCD menunjukkan bahwa akurasi dan kemampuan prediktif model masih dapat ditingkatkan. Untuk memperbaiki performa model, terdapat beberapa langkah yang dapat dilakukan yaitu peningkatan jumlah data eksperimen atau penambahan replikasi, serta memperluas rentang variabel untuk meningkatkan sensitifitas model. Selain itu, penambahan variabel interaksi dan efek kuadratik yang lebih kompleks perlu dipertimbangkan, terutama jika hubungan antar variabel tidak linear. Selanjutnya, untuk menguji ketahanan model terhadap data baru dan memberikan estimasi akurasi prediktif yang lebih realistis, maka dapat menerapkan validasi silang (*cross-validation*).

4. Pembahasan

4.1. Senyawa Biopolimer Kitosan

Biopolimer kitosan hasil isolasi dari cangkang kerang Mutiara (*Pinctada maxima* sp) teridentifikasi memiliki potensi sebagai antimikroba dan antibakteri yang baik karena memiliki kemurnian yang tinggi [10] [20]. Pembentukan senyawa kitosan diperkuat dengan teranalisisnya gugus fungsi amina (NH_2) dan hidroksil (OH). Bahkan terindikasi kemunculan gugus glikosidik (C-O-C) yang merupakan parameter penting kitosan sebagai biopolimer rantai panjang (gambar 1). Kekhasan karakteristik kitosan yang teranalisis menjadi faktor penting dalam fungsi kitosan sebagai antibakteri. Kemampuan kitosan sebagai antibakteri muncul akibat adanya gugus amina sebagai perusak sel pada bakteri *S.aureus* [21]. Selain itu, adanya interaksi elektrostatik antara kitosan kationik dan molekul anionic pada dinding sel bakteri yang menyebabkan kebocoran komponen intraselular sehingga bakteri *S.aureus* terhambat pertumbuhannya hingga menjadi mati.

4.2. Response Surface Methodology (RSM)

Eksperimen pengujian zona hambat bakteri *s.aureus* telah dilakukan sebanyak 30 kali percobaan. Data hasil percobaan (gambar 2) menunjukkan bahwa data percobaan masih fluktuatif. Hal ini terjadi karena adanya pengaruh internal maupun eksternal saat pengambilan data percobaan. Kondisi ini mendorong dilakukannya optimalisasi proses

melalui pemodelan komputasi menggunakan RSM pendekatan CCD. Pendekatan ini sangat efektif dalam mengevaluasi efek interaksi berbagai elemen terhadap kualitas dan hasil produk [22]. CCD juga memiliki kemampuan dalam memahami hubungan kompleks antar variable. Selain itu CCD sering digunakan dalam mendukung penelitian dasar yang memiliki jumlah data yang sedikit sehingga mampu mengoptimalkan hasil prediksi melalui optimasi proses, formula, atau kombinasi dari kedua model. Optimalisasi komputasi melalui pemodelan dapat meningkatkan efisiensi biaya dan waktu penelitian.

Hasil penelitian melalui eksperimen perhitungan zona hambat menunjukkan kitosan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *s.aureus* (gambar 2). Secara statistic besarnya variabilitas dalam data respon (output) dijelaskan melalui nilai koefisien determinasi R^2 , adjusted R^2 , dan predicted R^2 . Berdasarkan data eksperimen nilai R^2 menunjukkan model yang cukup mampu menjelaskan hubungan antara variable independen (jumlah koloni bakteri dan konsentrasi kitosan) terhadap variable respon (zona hambat). Nilai R^2 mendekati 1 berarti bahwa semakin baik model menjelaskan data [23]. Selain itu, nilai adjusted R^2 lebih kecil daripada R^2 , maka beberapa variable dalam model kemungkinan tidak memberikan kontribusi yang relevan. Sedangkan kemampuan model dalam memprediksi nilai respon dapat terintegrasi dengan nilai predicted R^2 . Nilai predicted R^2 juga lebih kecil dari R^2 sehingga terjadi overfitting pada model (gambar 3).

Evaluasi model yang diperoleh berdasarkan data melalui pendekatan CCD teridentifikasi melalui analisis ANOVA. Relevansi model secara statistic ditinjau melalui p-value dan F-value. Berdasarkan analisis nilai tersebut, model yang dihasilkan relevan terhadap hubungan jumlah koloni bakteri dan konsentrasi larutan kitosan dengan zona hambat bakteri yang signifikan. Selain itu, nilai *lack of fit* dengan P-value sebesar 0,081 mengidentifikasi bahwa model cocok untuk memprediksi zona hambat. Fakta ini juga didukung melalui pemodelan 3D hubungan antar variable jumlah koloni bakteri, konsentrasi kitosan, dan zona hambat. Selain model 3D, proyeksi zona hambat dibuat dalam garis kontur 2D korelasi antara jumlah koloni bakteri dengan konsentrasi kitosan (gambar 3). Pola yang dibentuk menjelaskan bahwa semakin kecil jumlah koloni yang diikuti dengan meningkatnya konsentrasi kitosan menghasilkan zona hambat yang maksimum. Hal ini terjadi akibat penambahan jumlah kitosan berdampak pada peningkatan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan mempengaruhi aktivitasnya[24].

Akurasi model terevaluasi melalui hubungan antara sumbu X dan sumbu Y yang mencerminkan kemampuan model memprediksi nilai actual. Sedangkan diagonal antara sumbu X dan sumbu Y mengevaluasi kinerja model, mengidentifikasi kekuatan prediksi, dan mengamati potensi galat. Dari aspek kesesuaian model, sebagian besar titik tersebar berdekatan dengan garis diagonal yang berarti model memiliki kemampuan yang cukup baik dalam memprediksi nilai respon. Beberapa titik terletak jauh dari garis diagonal yang mengindikasikan kesalahan prediksi pada titik tersebut. Sedangkan dari aspek penyebaran titik teranalisis titik tersebar disekitar garis diagonal namun tidak berhimpitan. Kondisi ini menunjukkan terdapat variasi dalam data prediksi dibandingkan dengan data sebenarnya. Keberadaan titik jauh dari garis diagonal kemungkinan akibat kemampuan menangkap pola dalam data (gambar 4). Berdasarkan hasil Analisa tersebut model memiliki kinerja prediksi dalam kategori baik sehingga perlu penambahan jumlah penyebaran titik dan perlu dilakukan validasi hasil prediksi.

5. Kesimpulan

Cangkang kerang Mutiara (*Pinctada maxima*) telah berhasil ditransformasi menjadi biopolimer kitosan menggunakan metode isolasi microwave. Produk kitosan dikonfirmasi dengan analisis spektrum IR teranalisis DD sebesar 83,29% dan munculnya gugus khas kitosan yakni gugus amina (NH_2) dan gugus hidroksil (OH). Kitosan tersebut mampu dimanfaatkan sebagai antibakteri karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri *s.aureus* dengan zona hambat 0,32 mm hingga 0,40 mm. Secara menyeluruh 30 data eksperimen perhitungan zona hambat sangat fluktuatif, sehingga belum dapat ditarik kesimpulan secara actual. Oleh karena itu, hasil eksperimen dikombinasikan dengan komputasi pemodelan menggunakan RSM pendekatan CCD. Berdasarkan analisis statistik ANOVA variabilitas data respon (output) memperoleh nilai koefisien determinasi $R^2 = 0,6083$, adjusted $R^2 = 56,31\%$, dan predicted $R^2 = 50,53\%$. Pemodelan terevaluasi secara statistik $p\text{-value} < 0,0001$ dan $F\text{-value}$ sebesar 13,46. Kondisi ini menggambarkan bahwa modelnya cukup mampu menjelaskan hubungan antara variabel independen dengan variabel respon. Namun, beberapa variabel dalam model kemungkinan tidak memberikan kontribusi yang signifikan dan terjadi overfitting pada model. Tetapi, secara statistik model yang dihasilkan relevan terhadap hubungan jumlah koloni bakteri dan konsentrasi larutan kitosan dengan zona hambat bakteri yang signifikan. Nilai prediksi jumlah koloni dan konsentrasi yang disarankan agar zona hambatnya optimal yaitu 550.000 CFU/ml dan 42,5%. Dibandingkan dengan studi sebelumnya, penelitian menunjukkan relevansi dan keunggulan baik dari sisi sumber biomaterial lokal maupun pendekatan metodologis. Untuk meningkatkan akurasi model, disarankan penambahan titik data eksperimen dan validasi terhadap hasil prediksi. Secara umum, penelitian berkontribusi terhadap pengembangan material antibakteri berbasis limbah biogenik lokal yang ramah lingkungan dan berpotensi untuk diaplikasikan dalam bidang medis.

Ucapan Terima Kasih: Penelitian ini merupakan penelitian kolaborasi FT, FKIK, dan FMIPA Universitas Mataram. Sumber dana penelitian dari sumber Penerimaan Negara Bukan Pajak (PNBP) Universitas Mataram skema penelitian dosen pemula tahun 2025 Nomor : 3223/UN18.L1/PP/2025.

Referensi

- [1] C. Ardean dkk., "Factors influencing the antibacterial activity of chitosan and chitosan modified by functionalization," 2 Juli 2021, MDPI AG. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms22147449>.
- [2] D. Handayani, S. Alaa, D. W. Kurniawidi, dan S. Rahayu, "Pengolahan Limbah Cangkang Kerang Mutiara (*Pinctada Maxima*) Sebagai Adsorben Logam Berat Fe," *Jurnal Pertambangan dan Lingkungan*, vol. 3, no. 2, hlm. 10–15, 2022, doi: <https://doi.org/10.31764/jipl.v3i2.11464>.
- [3] D. W. Kurniawidi dkk., "Synthesis and Characterization of Nano Chitosan from Vannamei Shrimp Shell (*Litopenaeus vannamei*)," *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, vol. 14, no. 2, hlm. 380–387, Nov 2022, doi: <https://doi.org/10.20473/jipk.v14i2.32864>.
- [4] S. Rahayu dkk., "Synthesis of nanochitosan from oyster pearl shell (*Pinctada maxima*) as renewable energy candidate," *Acta Chimica Asiana*, vol. 7, no. 2, hlm. 526–533, Okt 2024, doi: <https://doi.org/10.29303/aca.v7i2.205>.
- [5] S. E. Nurmaulida dkk., "Fabrication of Chitosan Biopolymer from Pearl Oyster Shells (*Pinctada maxima*) for Medical Applications," *Indonesian Physical Review*, vol. 6, no. 2, hlm. 240–249, 2023, <https://ipr.unram.ac.id/index.php/ipr/article/view/227>.
- [6] D. W. Kurniawidi dkk., "Modification of Chitosan Isolation Method from Pearl Oyster Shell (*Pinctada maxima* sp) as A Source of Natural Polymer," dalam *Journal of Physics: Conference Series*, Institute of Physics, 2024. doi: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/2866/1/012015>.
- [7] A. S. Destrianintyas, S. Rahayu, R. R. Illahi, dan D. W. Kurniawidi, "Isolasi Kitosan dari Cangkang Kerang Mutiara (*Pinctada Maxima*) Menggunakan Deasetilasi dengan Gelombang Mikro," *Kappa Journal*, vol. 8, no. 2, hlm. 262–269, 2024, <https://e-journal.hamzanwadi.ac.id/index.php/kpi/article/view/27166>.
- [8] Z. Shariatnia, "Pharmaceutical applications of chitosan," 1 Januari 2019, Elsevier B.V. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2018.11.008>.

- [9] S. N. Ratna Ningsih, E. Tania, N. N. Azizah, S. L. Lutfiah, dan N. S. Gunarti, "AKTIVITAS ANTIBAKTERI KITOSAN DARI BERBAGAI JENIS BAHAN BAKU HEWANI : REVIEW JOURNAL," *Jurnal Buana Farma*, vol. 2, no. 4, hlm. 25–30, Des 2022, doi: <https://doi.org/10.36805/jbf.v2i4.576>.
- [10] M. Alaydrus dkk., "Effectiveness Study of Chitosan from Pearl Oyster Shells (*Pinctada maxima* sp.) as Antibacterial in Bone Scaffold Application," *Jurnal Biologi Tropis*, vol. 25, no. 1, hlm. 65–71, Jan 2025, doi: <https://doi.org/10.29303/jbt.v25i1.8135>.
- [11] M. A. Matica, F. L. Aachmann, A. Tøndervik, H. Sletta, dan V. Ostafe, "Chitosan as a wound dressing starting material: Antimicrobial properties and mode of action," 1 Desember 2019, MDPI AG. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms20235889>.
- [12] I. Ahmad dan W. C. Prabowo, "OPTIMASI METODE EKSTRAKSI BERBANTU MIKROWAVE DENGAN PELARUT HIJAU (ASAM SITRAT-GLUKOSA) TERHADAP KADAR POLIFENOL TOTAL DARI DAUN KADAMBA (*Mitragyna speciosa* Korth. Havil) MENGGUNAKAN RESPONSE SURFACE METHODOLOGY," *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, vol. 24, no. 1, hlm. 11–16, Jul 2020, doi: <https://doi.org/10.20956/mff.v24i1.9456>.
- [13] S. E. Ratnawati, N. Ekantari, R. W. Pradipta, dan B. L. Paramita, "Aplikasi Response Surface Methodology (RSM) pada Optimasi Ekstraksi Kalsium Tulang Lele The Application of Response Surface Methodology (RSM) on the Optimization of Catfish Bone Calcium Extraction," *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, vol. 20, no. 1, hlm. 41–48, 2018.
- [14] I. Rahmawati dkk., "Penerapan Response Surface Methodology dalam Optimasi Kondisi Proses Ekstraksi Antosianin pada Limbah Kulit Kakao dengan Metode Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol," *JC-T (Journal Cis-Trans): Jurnal Kimia dan Terapannya*, vol. 6, no. 1, Jun 2022, doi: <https://doi.org/10.17977/um0260v6i12022p024>.
- [15] A. Ramadhanti, S. Nurjanah, A. Widayanti, dan N. Ainina, "Pemodelan kondisi hidrodistilasi minyak atsiri jahe merah (*Zingiber officinale* var. Roscoe) dengan menggunakan Response Surface Methodology," *Agrointek : Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, vol. 18, no. 2, hlm. 429–439, Mei 2024, doi: <https://doi.org/10.21107/agrointek.v18i2.18904>.
- [16] B. Lahooti, M. Khorram, G. Karimi, A. Mohammadi, dan A. Emami, "Modeling and optimization of antibacterial activity of the chitosan-based hydrogel films using central composite design," *J Biomed Mater Res A*, vol. 104, no. 10, hlm. 2544–2553, Okt 2016, doi: <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35799>.
- [17] R. H. Myers, D. C. Montgomery, dan C. M. Anderson-Cook, *Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments*. John Wiley & Sons, 2016.
- [18] L. Indriani, E. R. Gunawan, dan D. Suhendra, "Optimasi Sintesis Asam Lemak Etanolamida Berbasis Minyak Ketapang Menggunakan Response Surface Methodology," *Jurnal Pijar Mipa*, vol. 16, no. 2, hlm. 247–257, Mar 2021, doi: <https://doi.org/10.29303/jpm.v16i2.2265>.
- [19] A. I. Khuri, *Response surface methodology and related topics*. World scientific, 2006.
- [20] O. M. Sandi, T. Muhandri, dan N. E. Suyatma, "Optimasi Pembuatan Heat Sealable Film dari Kolang-Kaling sebagai Bahan Kemasan," *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, vol. 35, no. 1, hlm. 79–91, Jun 2024, doi: <https://doi.org/10.6066/jtip.2024.35.1.79>.
- [21] R. Ardianto dan R. Amalia, "Optimasi Proses Deasetilasi Kitin menjadi Kitosan dari Selongsong Maggot menggunakan RSM," *METANA*, vol. 19, no. 1, hlm. 1–12, Jun 2023, doi: <https://doi.org/10.14710/metana.v19i1.50480>.
- [22] E. Antaby, K. Klinkhammer, dan L. Sabantina, "Electrospinning of chitosan for antibacterial applications—current trends," 1 Desember 2021, MDPI. doi: <https://doi.org/10.3390/app112411937>.
- [23] S. Somadasan, G. Subramaniyan, M. S. Athisayaraj, dan S. K. Sukumaran, "Central Composite Design: An Optimization Tool for Developing Pharmaceutical Formulations," *Journal of Young Pharmacists*, vol. 16, no. 3, hlm. 400–409, Agu 2024, doi: <https://doi.org/10.5530/jyp.2024.16.52>.
- [24] Y. Rizikiyan dan S. P. Tw, "UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN LIPSTIK SARI BUAH NAGA SUPER MERAH (*Hylocereus costaricensis* L.) DENGAN METODE DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)," *Warta Bhakti Husada Mulia: Jurnal Kesehatan*, vol. 6, no. 2, 2019, <https://jurnal.stikes-bhm.ac.id/index.php/jurkes/article/view/88>.
- [25] Y. Suryani, L. W. Sophia, T. Cahyanto, dan I. Kinasih, "UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN INFUSUM CACING TANAH (*LUMBRICUS RUBELLUS*) DENGAN TAMBAHAN KITOSAN UDANG PADA *SALMONELLA THYPI*," *Jurnal Istek*, vol. IX, no. 2, hlm. 264–281, 2015, <https://journal.uinsgd.ac.id/index.php/istek/article/view/199>.