

PEMBUATAN NANOKOMPOSIT KITOSAN/TiO₂/Ag DAN ANALISIS AKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIBAKTERI

Gladys K. Bungan¹, Henry F. Aritonang¹, Audy D. Wuntu¹

¹Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi Manado
Email: henryaritonang@unsrat.ac.id

ABSTRAK

Penelitian tentang pembuatan nanokomposit kitosan/TiO₂/Ag telah dilakukan dengan menggunakan TiO₂ sebanyak 6 gram dan konsentrasi AgNO₃ yaitu 5 mM menggunakan metode reduksi dan impregnasi. Nanokomposit yang dihasilkan dikarakterisasi menggunakan *X-Ray diffractometry* (XRD), *Scanning Electron Microscope-Energy Dispersive x-Ray Spectroscopy* (SEM-EDS) dan menganalisis aktivitasnya sebagai anti bakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (Gram positif) dan *Escherichia coli* (gram negatif). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ukuran nanokomposit yang dihasilkan sebesar 56,93 nm. Difraktogram XRD muncul puncak karakteristik partikel TiO₂ tetapi partikel Ag kurang terlihat jelas. Namun, berdasarkan data EDS, kedua partikel ini ditemukan pada membran kitosan. Ini menunjukkan bahwa sangat sedikit partikel Ag yang terbentuk atau keterbatasan alat XRD dalam mendeteksi sejumlah kecil partikel. Namun demikian, nanokomposit menunjukkan kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan kedua bakteri ini.

Kata kunci: nanokomposit, kitosan, TiO₂, Ag, antibakteri.

ABSTRACT

Research on the manufacture of chitosan/TiO₂/Ag nanocomposites has been carried out using 6 grams of TiO₂ and 5 mM AgNO₃ using reduction and impregnation methods. The resulting nanocomposites were characterized using X-Ray diffraction (XRD), Scanning Electron Microscope-Energy Dispersive x-Ray Spectroscopy (SEM-EDS) and analyzed their activity as anti-bacteria against *Staphylococcus aureus* (Gram positive) and *Escherichia coli* (gram negative). The results showed that the resulting nanocomposite size was 56.93 nm. The XRD diffractogram showed the peak characteristics of TiO₂ particles but the Ag particles were less visible. However, based on EDS data, the two particles were found on the chitosan membrane. This indicates that very few Ag particles are formed or the limitations of XRD devices in detecting a small number of Ag particles. However, the nanocomposites demonstrated their ability to inhibit the growth of these two bacteria.

Keywords: nanocomposite, chitosan, TiO₂, Ag, antibacterial.

PENDAHULUAN

Nanoteknologi adalah suatu teknologi yang melibatkan prekursor sebagai sumber material nano, ukuran dan bentuk partikel dalam skala nanometer sehingga mencapai keunikan sifat, yang dapat dimanipulasi sesuai kebutuhan yang diinginkan (Taleb dkk., 2005). Nanopartikel logam mulia seperti nanopartikel perak (Ag) dan nanopartikel emas (Au) telah menarik perhatian para peneliti karena sifat kimia dan optiknya yang unik, yang sangat

tergantung pada bentuk dan ukuran partikel (Sileikaite., 2006; Prashant dkk., 2007). Nanopartikel logam mulia umumnya disintesis melalui metode reduksi kimia karena prosedurnya yang mudah digunakan, mudah dikendalikan, dan menggunakan peralatan sederhana (Zielinska dkk., 2009). Namun, nanopartikel umumnya tidak stabil dan cenderung membentuk agregat-agregat atau aglomerasi. Salah satu cara untuk mengatasi masalah ini adalah dengan mendispersikannya ke dalam matriks polimer alami atau sintesis

seperti kitosan, selulosa, dan polivinil alkohol (PVA).

Titanium oksida (TiO_2) banyak digunakan dalam beberapa proses industri yang relevan, mulai dari aplikasi lingkungan hingga energi bersih dan kosmetik hingga cat (Helgesen dkk., 2010). Penggunaan TiO_2 yang luas didasarkan pada aktivitas foto/sinar (*photo activity*) yang sangat efisien, stabilitas kimia yang tinggi, dan biaya yang rendah (Chen dkk., 2014).

Selain TiO_2 , nanopartikel Ag juga telah terbukti banyak diaplikasikan dalam bentuk pembalut luka, pelapis untuk peralatan medis, nanopartikel Ag yang diimpregnasi ke kain tekstil (Tang dkk., 2011). Nanopartikel TiO_2 dan Ag telah menarik perhatian karena kemampuannya dalam meningkatkan sifat mekanik, dan efektivitas antibakteri terhadap bakteri Gram-positif atau Gram-negatif dan pertumbuhan sel (Aritonang dkk., 2020; Galdiero dkk., 2011). Selain itu, penelitian lain menunjukkan bahwa menggabungkan kitosan atau modifikasi kitosan dengan Ag menjadi komposit menghasilkan lapis tipis dan bahan hidrogel dengan aktivitas antimikroba yang meningkat dan meningkatkan kekuatan tarik (Liu & Huang., 2008). Dalam karya terbaru lainnya, menunjukkan bahwa menggabungkan kitosan dengan nanopartikel TiO_2 menghasilkan bahan dengan aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram-positif *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) dan *Escherichia coli* (*E. coli*) serta menampilkan karakteristik penyembuhan luka yang menjanjikan (Peng dkk., 2008).

Penelitian tentang penggabungan kitosan dengan kedua nanopartikel TiO_2 dan Ag masih terbatas dilaporkan. Amin & Panhuis (2012) telah mensintesis komposit kitosan/ TiO_2 /Ag menggunakan gliserin sebagai *plasticizer* namun belum dilaporkan aktivitas antibakteri dari komposit tersebut. Tujuan penelitian adalah mensintesis nanokomposit kitosan/ TiO_2 /Ag tanpa menggunakan gliserin dan menganalisis aktivitasnya sebagai antibakteri, baik gram positif maupun negatif.

BAHAN DAN METODE

Beberapa bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol, kitosan, titan dioksida, argemum nitrat dan asam asetat

diperoleh dari Merck (Damstadt, Germany). Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, larutan Mc Farland, natrium agar dan siprofloksasin diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Farmasi FMIPA Unsrat

Pembuatan nanokomposit kitosan/ TiO_2 /Ag

Pembuatan komposit kitosan/ TiO_2 /Ag mengikuti prosedur Amin & Panhuis (2012). Sebanyak 6 gram kitosan dimasukkan ke dalam gelas kimia 250 mL, selanjutnya dimasukkan 10 mL asam asetat 5% dan diaduk dengan bantuan stirer selama 60 menit pada kecepatan 600 rpm (Larutan I). Pada wadah lain, sebanyak 200 mg serbuk TiO_2 ditambahkan akuades sebanyak 90 mL, diaduk dengan bantuan stirer pada waktu dan kecepatan yang sama. Selanjutnya, ke dalam larutan TiO_2 tersebut dimasukkan sebanyak 10 mL AgNO_3 5 mM dan diaduk kembali dengan bantuan stirer selama 30 menit dengan kecepatan yang sama (Larutan II). Selanjutnya, Larutan-I dan Larutan-II dicampur dalam wadah gelas kimia 500 mL, dibungkus dengan aluminium foil, diaduk dengan bantuan stirer kecepatan 600 rpm selama 2 jam dan sambil dipanaskan di atas *hotplate* pada suhu 70 °C. Tiap 3 mL dari larutan hasil pemanasan, dituangkan di atas tiap cawan akrilik dan dimasukkan ke dalam oven untuk dipanaskan pada suhu 70 °C selama 4 jam. Membran yang telah kering dikarakterisasi dengan XRD, SEM-EDS serta uji aktivitasnya dengan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Dengan cara yang sama, dilakukan variasi jumlah TiO_2 yaitu 400 mg dan 600 mg.

Pembuatan kultur bakteri

Kontrol negatif berupa kertas saring dan kontrol positif berupa cakram *Cyprofloxacin* yang merupakan antibiotik spektrum luas sehingga tepat untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun negatif. Pembuatan stok bakteri dengan cara menginokulasikan 1 ose biakan murni bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ke dalam nutrient agar (NA), kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam di dalam inkubator.

Uji daya hambat bakteri

Metode uji antibakteri mengikuti prosedur Kusmiyati & Agustini (2007) dan Harits dkk., (2014) yang dimodifikasi. Sebanyak 10,2 g NA ditimbang dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer dan ditambahkan akuades sebanyak 400 mL kemudian disterilkan. Diangkat dan dimasukkan ke dalam autoclav selama 15 menit untuk disterilisasi, bakteri yang telah diinkubasi diencerkan dengan mencampurkan masing-masing 1 ose suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* ke dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan NaCl, dihomogenkan menggunakan vortex dan kekeruhannya distandarisasi dengan konsentrasi 0,5 McFarland untuk memperoleh konsentrasi sebesar 108 koloni/mL. Bakteri tersebut dicampurkan dalam NA yang masih berada dalam Erlenmeyer, dituangkan kedalam setiap cawan petri sebanyak 20 mL. Untuk uji antibakteri, sampel nanokomposit dipotong menjadi bentuk bulatan cakram dengan diameter 5 mm, kontrol positif yaitu *Cyprofloxacin* dancakram sampel ditempatkan pada cawan petri tersebut. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37 °C dan diameter zona hambat yang terbentuk diukur secara vertikal dan horizontal menggunakan jangka sorong ukuran milimeter.

X-ray diffractometry (XRD)

Pola X-RD dicatat pada difraktometer sinar-X (PW1710, Philips), menggunakan radiasi Cu K α ($\lambda = 0,15406$ nm) pada 40 kV dan 30 mA. Sudut difraksi berkisar antara 10° sampai 90°. Ukuran kristalit nanokomposit kitosan/TiO₂/Ag dihitung berdasarkan pengukuran difraksi sinar-X. Ukuran kristalit dihitung dari data lebar penuh pada setengah maksimum (*Full Width at Half Maximum*, FWHM) puncaknya dengan menggunakan rumus Scherrer (Monshidkk., 2012).

$$L = \frac{k\lambda}{\beta \cos\theta} \dots\dots\dots (1)$$

dimana L adalah ukuran rata-rata kristalit kitosan/TiO₂/Ag, k adalah konstanta yang bernilai 0,9, λ adalah panjang gelombang sinar-X, β adalah nilai FWHM dalam radian, dan θ adalah sudut difraksi.

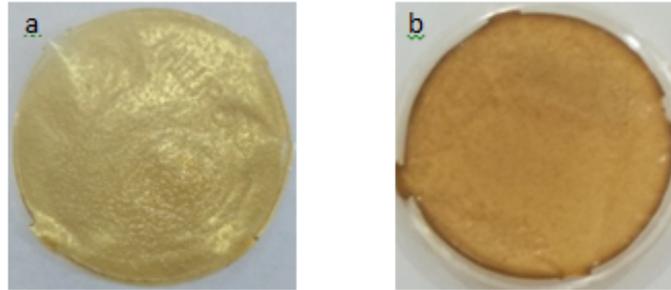
Scanning electron microscopy-energy dispersive x-ray spectroscopy (SEM-EDS)

Analisis morfologi nanokomposit kitosan/TiO₂/Ag dilakukan menggunakan JEOL SEM (MC1000, Hitachi, Tokyo, Jepang) yang dilengkapi dengan detektor EDS dengan tegangan percepatan 15 kV.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan nanokomposit kitosan/TiO₂/Ag

Sebelum dilakukan pembuatan nanokomposit kitosan/TiO₂/Ag, terlebih dahulu dilakukan pembuatan membran kitosan. Hal ini dilakukan dengan cara melarutkan serbuk kitosan ke dalam larutan asam asetat 5%. Serbuk kitosan yang telah ditambahkan ke dalam asam asetat menyebabkan serbuk kitosan melarut. Setelah dituangkan di atas akrilik dan dipanaskan di dalam oven suhu 70 °C menghasilkan membran kitosan kering yang tampak pada Gambar 1. Pembuatan membran nanokomposit kitosan/TiO₂/Ag dilakukan dalam tiga tahap, yaitu pertama: melarutkan serbuk kitosan menjadi larutan kitosan, kedua: pemanasan campuran dari larutan kitosan, serbuk TiO₂ dan larutan AgNO₃serta ketiga: pemanasan campuran larutan tersebut di atas akrilik di dalam oven suhu 70 °C. Secara visual, perbedaan morfologi membran kitosan dan membran nanokomposit kitosan/TiO₂/Ag tersaji pada Gambar 1.

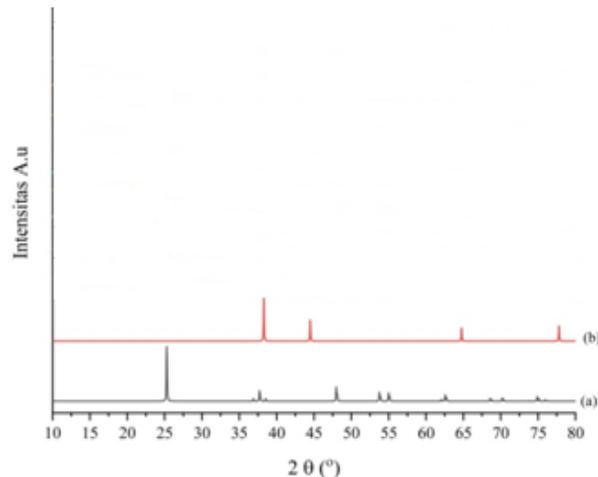


Gambar 1. Perbedaan morfologi membran (a) kitosan, (b) kitosan/TiO₂/Ag

Karakterisasi X-ray diffractometry (XRD)

Untuk mengetahui telah terbentuknya Ag dalam membran kitosandari sumber prekursoranya dan telah terdeposisinya Ag dan

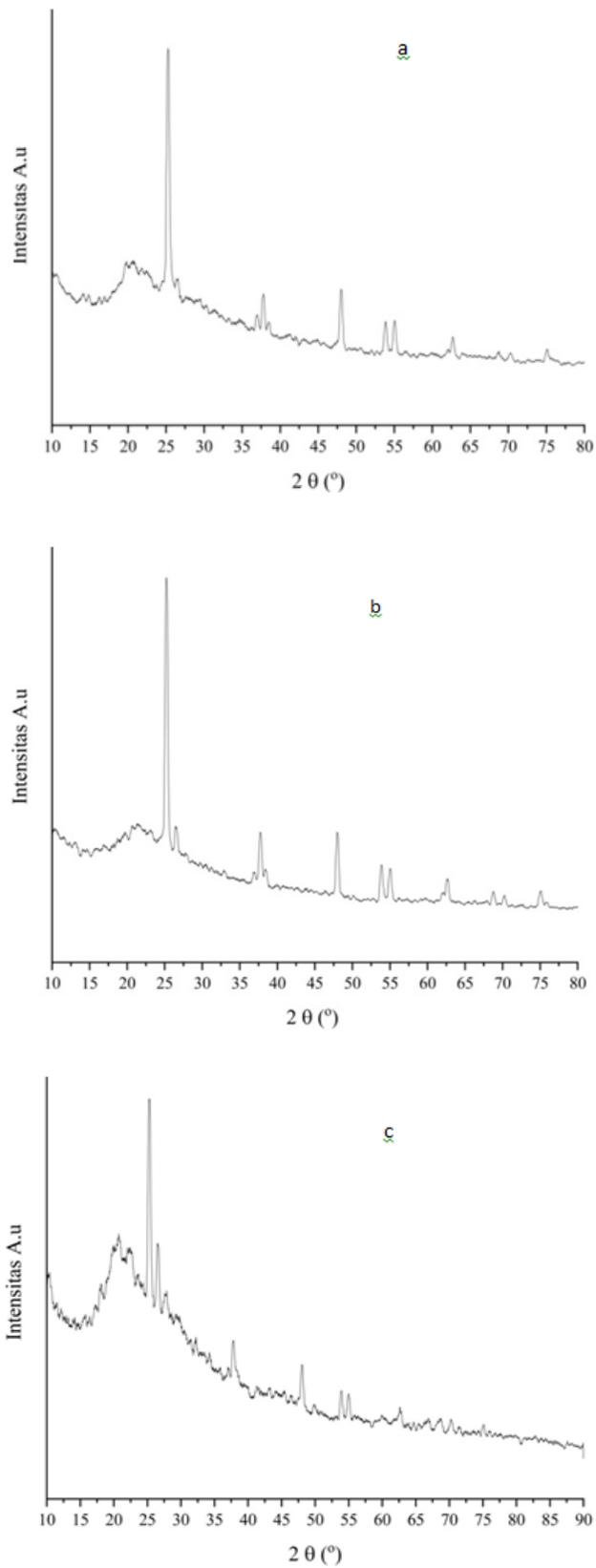
TiO₂ pada kitosan, maka dianalisis dengan XRD. Pada difraktogramnya muncul pola difraksi dengan adanya puncak-puncak pada daerah 2θ, seperti yang terlihat pada Gambar 2 berikut.



Gambar 2. Difraktogram. (a) TiO₂ (standar) dan (b) Ag standar

Pola difraksi sampel membran nanokomposit telah dibandingkan dengan pola difraksi standar untuk partikel-partikel TiO₂ dan Ag. Dalam penelitian ini, sebagai pembanding menggunakan standar dari *Inorganic Crystal Structure Database* (ICSD). Berdasarkan data dari ICSD tersebut, daerah 2θ untuk TiO₂ standar yaitu 25,28°; 36,96°; 37,70°; 38,54°; 47,98°; 53,76°; 55,00°; 62,18°; 62,56°; 62,74°; 62,8°; 68,50°, sedangkan untuk Ag standar yaitu 38,08°; 44,56°; 64,76°; 77,71.

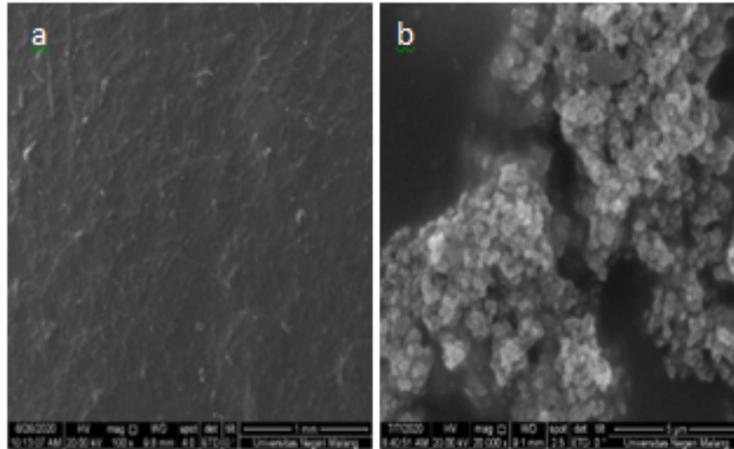
Tampak bahwa pola difraksi semua sampel membran nanokomposit kitosan/TiO₂/Ag mirip. Bila dilihat secara seksama, puncak pada daerah 25,28° merupakan karakteristik dari puncak TiO₂. Puncak ini sangat dekat dengan puncak dari kitosan yaitu pada daerah 2θ 26,55°. Dengan menggunakan persamaan Scherrer bahwa ukuran nanokomposit yang dihasilkan sebesar 56,93 nm.



Gambar 3. Difraktogram sampel nanokomposit: (a) kitosan/TiO₂/Ag-200-5, (b) kitosan/TiO₂/Ag-400-5, (c) kitosan/TiO₂/Ag-600-5

Karakterisasi scanning electron microscope-energy dispersive X-ray (SEM-EDS)

Permukaan membran kitosan, dilakukan menggunakan SEM dengan perbesaran 5000 kali. Hasil karakterisasinya dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Citra SEM dari membran (a) kitosan; (b) N-K/TiO₂/Ag-600-5

Gambar 4. di atas menunjukkan bahwa morfologi permukaan kitosan rata, seperti yang dilaporkan Amin & Panhuis., (2012). Sementara itu, permukaan membran nanokomposit terdapat kumpulan partikel-partikel TiO₂ dan Ag. Informasi ini mendukung data yang dihasilkan dari XRD bahwa nanopartikel Ag telah terbentuk dan TiO₂ terdepositasi bersama Ag pada membran kitosan/TiO₂/Ag. Namun demikian, partikel tersebut tidak dapat dibedakan antara partikel-partikel TiO₂ dan Ag.

Uji aktivitas antibakteri menggunakan nanokomposit kitosan/TiO₂/Ag

Nanokomposit kitosan/TiO₂/Ag yang telah dihasilkan pada penelitian ini diuji aktivitas antibakterinya, baik bakteri Gram-negatif (*Eschericia.coli*) maupun Gram-positif (*Staphylococcus aureus*). Aktivitas penghambatan nanokompositterhadap pertumbuhan bakteri diukur berdasarkan luas zona bening yang terbentuk di sekitar *paperdisk* (Purnamaningsih dkk., 2017). Adapun nilai daya hambat pertumbuhan bakteri tersaji pada Tabel 1 berikut ini.

Table 1. Daya hambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*

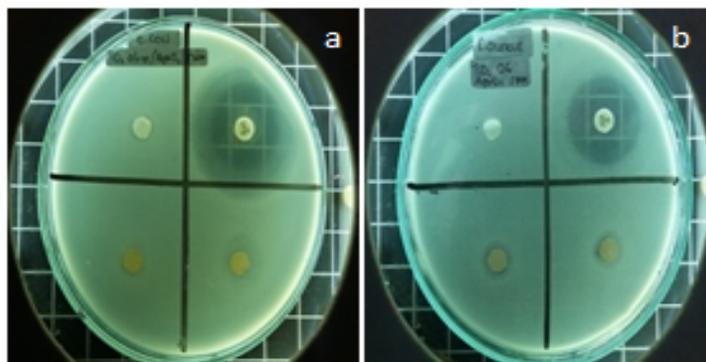
Sampel	Daya hambat (mm)	
	<i>Eschericia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Kitosan	6,5	7
N-K/TiO ₂	6	6
N-K/Ag	6,5	6,5
N-K/TiO ₂ /Ag-200-5	8,75	6
N-K/TiO ₂ /Ag-400-5	8,75	7,5
N-K/TiO ₂ /Ag-600-5	10	9,75

Uji aktivitas antibakteri dengan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia.coli*

terhadap membran nanokomposit kitosan/TiO₂/Ag dengan variasi massa TiO₂

dan konsentrasi prekursor AgNO_3 5 mM menunjukkan adanya daya hambat pertumbuhan bakteriyang berbeda-beda. Informasi yang dapat diberikan ketika dilakukan terhadap bakteri *Eschericia coli*. Ketika menggunakan konsentrasi prekursor AgNO_3 5 mM, daya hambat tertinggi ditunjukkan pada membran nanokomposit N-

K/ TiO_2 /Ag-600-5, sedangkan uji antibakteri dengan bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan hal yang mirip dengan ketika uji dengan bakteri *Eschericia coli*. Ketika menggunakan konsentrasi prekursor AgNO_3 5 mM, daya hambat tertinggi ditunjukkan pada membran nanokomposit N-K/ TiO_2 /Ag-600-5.



Gambar 5. Daya hambat N-K/ TiO_2 /Ag-600-5 (a) *E.coli* dan (b) *S.aureus*

Informasi ini menunjukkan bahwa meningkatnya konsentrasi prekursor TiO_2 , maka relatif meningkatkan daya hambat pertumbuhan bakteri, baik *Eschericia coli* maupun *Staphylococcus.aureus*. Selain itu, membran nanokomposit N-K/ TiO_2 /Ag-600-5 menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih baik dalam menghambat pertumbuhan kedua bakteri tersebut.

Berdasarkan pengujian antibakteri nanopartikel kitosan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* diperoleh hasil bahwa kemampuan antibakteri nanopartikel kitosan bekerja lebih aktif dalam menekan pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* dibandingkan pada *Staphylococcus aureus* hal ini dibuktikan dalam penelitian Suherman dkk.. (2018), bahwa kitosan mempunyai muatan positif yang kuat yang dapat mengikat muatan negatif dari senyawa lain atau berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri karena sifat utamanya adalah antibakteri.

KESIMPULAN

Nanokomposit kitosan/ TiO_2 /Ag dapat dibuat melalui proses pengadukan untuk menghomogenkan larutan kitosan/ TiO_2 /Ag

serta pemanasan yang lama, dimana terbentuknya nanopartikel Ag diawali dengan tereduksinya prekursor AgNO_3 melalui proses pemanasan. Ukuran partikel TiO_2 yang masuk ke dalam komposit adalah berukuran nano, namun ukuran Ag tidak dapat dihitung karena data daerah 20-nya tidak muncul di fraktogram. Namun demikian, berdasarkan data EDS, membran nanokomposit mengandung partikel-partikel Ag. Selanjutnya, nanokomposit kitosan/ TiO_2 /Ag mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan daya hambat yang hampir sama.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, K. A.M & Panhuis, M.I.H. 2012. Reinforced materials based on chitosan, TiO_2 and Ag composites. *Polymers*. 4(1), 590-599.
- Aritonang, H.F., Tarigan, A.K. & Wuntu, A.D. 2020. Synthesis and characterization of ag-doped zno nanoparticles and their photocatalytic degradation activity. *International Journal of Advanced Science and Technology*. 29(08), 1072-1079.

- Chen, F., Yan, Q., Chen, Y., Wang, L. & Han, Z. 2014. Fabrication of Fe₃O₄, SiO₂, TiO₂ nanoparticles supported by graphene oxide sheets for therepeated adsorption and photocatalytic degradation of rhodamine B under UV irradiation. *Dalton Trans.* 43(36), 13537-13544.
- Galdiero, S., Falanga, A., Vitiello, M., Cantisani, M., Marra, V. & Galdiero, M. 2011. Silver nanoparticles as potential antiviral agents. *Molecule.* 16(10), 8894-8918.
- Harits, A., Sri, W. & Priatmoko, S. 2014. Preparasi nanopartikel perak dengan metode reduksi dan aplikasinya sebagai antibakteri penyebab infeksi. *Indonesian Journal of Chemical Science.* 10(3), 1-6.
- Helgesen, M., Sondergaard, R. & Krebs, F.C. 2010. Advanced materials and processes for polymer solar cell devices. *Journal of Materials Chemistry.* 20(1), 36-60.
- Kusmiyati & Agustini, N.W.S. 2007. Uji aktivitas senyawa antibakteri dari mikroalga porphyridium cruentum. Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong 16911. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity.* 8(1), 48-53.
- Liu, B.S & Huang, T.B. 2008. Nanocomposites of genipin-crosslinked chitosan/silver nanoparticles-structural reinforcement and antimicrobial properties. *Macromolecular Bioscience.* 8(10), 932-941
- Monshi, A., Forouhu, M.R., & Monshi, M.R. 2012. Modified Scherrer equation to estimate more accurately nanocrystallitesize using XRD. *World Journal of Nano Science and Engineering.* 2(10), 154-160.
- Peng, C.C., Yang, M.H., Chiu, W.T., Chiu, CH., Yang, C.S., Chen, Y.W., Chen, K.C., & Peng, R.Y. 2008. Composite nano-titanium oxide–chitosan artificial skin exhibits strong wound-healing effect-an approach with anti-inflammatory and bactericidal kinetics. *Macromolecular Bioscience.* 8(4), 316-327.
- Prashant, K.J., Elsayed, H.I., & El-sayed. M.A. 2007. Au nanoparticle target cancer. *Journal Nano Today.* 2(12), 18 – 28.
- Purnamaningsih, N., Kalor, H. & Atun, S. 2017. aktivitas antibakteri ekstrak temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza*) terhadap bakteri *Escherichia coli* atcc 11229 dan *Staphylococcus aureus* atcc 25923. *Jurnal Penelitian saintek.* 22(2), 140-147.
- Sileikaite, A. 2006. Analysis of silver nanoparticles produced by chemical reduction of silver salt solution. *Materrials Science.* 12(4), 187-291.
- Suherman, B., Muhdar, L. & Sisilia, T.D.R. 2018. Potensi kitosan kulit udang Vannemei (*Litopenaeus vannamel*) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Propionibacterium agnes*, dan *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram kertas. *Jurnal Media Farmasi.* 14(1), 124-125
- Taleb, M., Claudia, G., Sztrum., Asaf, S., Eran R. & Uri B. 2005. Formation of asymmetric one-sided metal-tipped semiconductor nanocrystal dots and rods. Department of Physical Chemistry, The Farkas Center For Light Induced Processes, and The Center For Nanoscience And Nanotechnology. *The Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem 91904, Israel 2 School Of Chemistry. The Sackler Faculty of Exact Sciences.* 4(1), 855-861.
- Tang, B., Wang, J., Xu, S., Afrin, T., Xu, W., Sun, L. & Wang, X. 2011. Application of anisotropic silver nanoparticles: Multifunctionalization of wool fabric. *Colloid Interface Science.* 365(2), 513-518.
- Zielinska, A., Skwarek, E., Zeleska, A., Gazda, M. & Hupka, J. 2009. Preparation of silver nanaportikels with comtrolled particle size. Department of Chemistry Technologi, Chemical Faculty, Gdansk University of Technologi. *Advances in Materials Science.* 1(2), 1560-1566.