

Sintesis dan Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ag-Zeolit A

Stifanus Billy Pelle¹, Audy Denny Wuntu^{*1}, Henry Fonda Aritonang¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi, Manado, 95115

*Corresponding author: wuntudenny@unsrat.ac.id

Abstrak

Telah dilakukan penelitian tentang sintesis nanopartikel Ag-Zeolit A (Ag-ZA) dan aktivitas antibakterinya. Sintesis material dikerjakan menggunakan bahan-bahan dasar aluminium hidroksida, silikon dioksida, dan AgNO₃. Material hasil sintesis dikarakterisasi dengan teknik difraksi sinar-X (XRD) dan kemudian diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil analisis XRD menunjukkan terbentuknya Ag-ZA yang ditandai dengan munculnya puncak-puncak 2θ yang bersesuaian dengan pola difraksi standar yang digunakan. Pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa material hasil sintesis dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Material Ag-ZA yang dihasilkan dari ZA yang disintesis dengan waktu *ageing* 60 menit membentuk zona hambat terbesar untuk bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Kata kunci: Ag; Zeolit A; antibakteri; *S.aureus*; *E.coli*

Synthesis and Antibacterial Activity Ag-Zeolit A Nanoparticles

Abstract

Research on the synthesis of Ag-Zeolite A (Ag-ZA) and its antibacterial activity was performed. Material synthesis was carried out using raw materials of aluminum hydroxide, silicon dioxide, and AgNO₃. The synthesized material was characterized by the X-ray diffraction (XRD) technique and then tested for its antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The results of XRD analysis showed the formation of Ag-ZA which was indicated by peaks at 2θ corresponding to the standard diffraction pattern used. The antibacterial activity test showed that the synthesized material could inhibit the growth of the bacteria. Ag-ZA material produced from ZA synthesized at an aging time of 60 minutes formed the largest inhibition zone for *E. coli* and *S. aureus* bacteria.

Keywords: Ag; zeolite A; antibacterial; *S.aureus*; *E. coli*

PENDAHULUAN

Zeolit merupakan suatu kelompok mineral yang dihasilkan dari proses hidrotermal pada batuan beku basa. Mineral ini banyak ditemui pada celah batuan beku basa. Selain itu, zeolit juga merupakan endapan dari aktivitas vulkanik yang banyak mengandung silika. Berdasarkan pembentukannya, zeolit dapat dibedakan menjadi zeolit alam dan zeolit sintetis. Zeolit alam diperkirakan terbentuk dari lava gunung berapi yang membeku menjadi batuan vulkanik, membentuk sedimen dan batuan metamorf, selanjutnya mengalami proses pelapukan dan akhirnya terbentuk mineral zeolit (Setyawan, 2002). Zeolit alam biasanya masih tercampur dengan mineral lainnya seperti kalsit, gipsum, felspar, dan kuarsa (Las & Zamroni, 2007).

Zeolit sintetis adalah suatu senyawa kimia yang memiliki sifat fisik dan kimia yang sama dengan zeolit alam, berasal dari bahan lain yang dibuat sedemikian rupa sehingga sama dengan zeolit yang ada di alam (Payra & Dutta, 2003). Keefektifan zeolit sintetis sebagai senyawa antibakteri dilaporkan lebih baik dibandingkan dengan zeolit alam, karena zeolit sintetis tidak mengandung pengotor. Adanya pengotor yang masih terkandung dalam zeolit mengakibatkan aktivitas antibakteri berkurang serta dapat memberikan dampak buruk bagi kesehatan. Zeolit-A (ZA) hasil sintesis merupakan zeolit yang banyak digunakan sebagai

material antibakteri karena aman, tidak bersifat teratogenik, serta tidak menginduksi toksisitas dan karsinogenitas (Henkel, 2004).

Kemampuan antibakteri ZA telah diteliti sebelumnya dan dilaporkan aktivitasnya terhadap *Acinetobacter junii* dan *Saccaromyces cereviceae* (Hrenović *et al.*, 2010) serta *Ceriodaphnia dubia* (Warne & Schifko, 1999). Kemampuan ZA sebagai antibakteri disebabkan oleh kemampuannya menghasilkan ion hidroksil saat terhidrolisis dalam air. Ion hidroksil tersebut akan meningkatkan pelepasan silikon dan aluminium dari kerangka zeolit membentuk kompleks bermuatan positif $[Al_mH_nNa_pO_qSi_{3-5}]^{2+}$. Kompleks bermuatan positif tersebut selanjutnya akan berinteraksi dengan dinding sel mikroba yang bersifat elektronegatif (fosforil, karboksil, dan hidroksil) melalui gaya elektrostatik (Hrenović *et al.*, 2010).

Selain itu, antibakteri yang banyak dilaporkan bersumber dari beberapa logam, diantaranya adalah logam perak (Ag). Logam Ag juga merupakan agen antibakteri yang efektif dalam menghambat mikroorganisme patogen seperti virus, bakteri, dan mikroorganisme eukariotik dalam berbagai bidang yang berhubungan dengan kesehatan. Kekuatan aktivitas antibakteri pada perak efektif untuk melawan sekitar 650 jenis bakteri. Ion Ag dapat memberikan efek antibakteri pada konsentrasi yang rendah (Lee *et al.*, 2007). Konsentrasi rendah dari $AgNO_3$ bersifat letal untuk bakteri gram negatif dan bakteri gram positif (Yaohui *et al.*, 2008).

Pada penelitian ini telah dilakukan sintesis Ag-ZA menggunakan zeolit A (ZA) yang disintesis sebelumnya dengan metode hidrotermal dan menerapkan waktu ageing yang berbeda. Selanjutnya material yang diperoleh diuji sifat antibakterinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) dan bakteri *Escherichia coli* (*E.coli*) yang merupakan bakteri patogen. Bakteri patogen lebih berbahaya dan menyebabkan infeksi baik secara sporadik maupun endemik (Djide & Sartini, 2008).

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan-bahan utama yang digunakan adalah silikon dioksida (SiO_2), aluminium hidroksida ($Al(OH)_3$), natrium hidroksida (NaOH), perak nitrat ($AgNO_3$) (Merck), bakteri uji (*S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 25922), tablet Ciprofloxacin 500 mg, *Nutrient Agar* (NA), dan NaCl 0,9 %. Instrumen utama yang digunakan adalah difraktometer sinar-X (Rigaku SmartLab 3 kV) dan peralatan uji antibakteri.

Sintesis Zeolit A

ZA disintesis dengan mengikuti prosedur yang telah dikerjakan oleh Wuntu (2002) dengan variasi waktu *ageing* 60 menit, 150 menit, dan 240 menit.

Sintesis Ag-Zeolit A

Sintesis Ag-ZA dilakukan dengan menggunakan metode Rivera *et al.* (2000) yang dimodifikasi. Sebanyak 1 g ZA hasil sintesis dicampurkan dengan 25 ml larutan $AgNO_3$ 0,03 M. Campuran tersebut diaduk dan dipanaskan di atas hot plate stirrer pada suhu 60°C selama 2 jam kemudian disaring dan dikeringkan di dalam oven selama 24 jam dengan suhu 100°C. Padatan Ag-ZA yang diperoleh selanjutnya dikarakterisasi menggunakan XRD dan di analisis menggunakan perangkat lunak Match!3. Selanjutnya, estimasi komposisi masing-masing komponen dalam material yang diperoleh ditentukan dengan metode *Rietveld Refinement* yang terintegrasi dalam perangkat lunak Match!3.

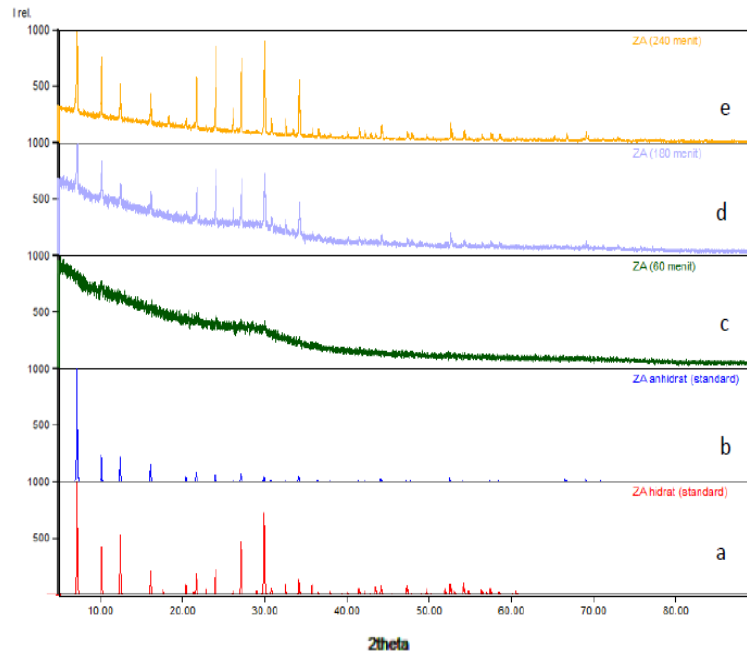
Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri material yang diperoleh selanjutnya diuji terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* mengikuti prosedur yang dikerjakan oleh Aritonang *et al.* (2019). Air distilasi digunakan sebagai kontrol negatif dan ciprofloxacin digunakan sebagai kontrol positif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesis Zeolit A

ZA tersusun atas rangkaian silika dan alumina. Dalam sintesis nanopartikel Ag-ZA pada penelitian ini, ZA terlebih dahulu disintesis melalui pencampuran antara larutan aluminat dan silikat dengan proses zeolitisasi yang berlangsung dalam suasana hidrotermal selama 60 menit, 150 menit dan 240 menit. Umumnya, kenaikan suhu berpengaruh positif terhadap laju pertumbuhan kristal aluminosilikat zeolit sedangkan waktu akan berpengaruh terhadap kristalinitas aluminosilikat (Balkus & Ly, 1991). Difraktogram ZA yang diperoleh ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Difraktogram ZA. a = ZA hidrat standar [$\text{Na}_{12}(\text{Al}_{12}\text{Si}_{12}\text{O}_{48})(\text{H}_2\text{O})_{27}$] (COD ID-8104214); b = ZA anhidrat standar [$\text{Na}_{12}(\text{Al}_{12}\text{Si}_{12}\text{O}_{48})$] (COD ID-4124673); c = ZA (60 menit); d = ZA (150 menit); e = ZA (240 menit)

Difraktogram material ZA (150 menit) dan ZA (240 menit) menunjukkan adanya 9 puncak pada daerah 2θ di sekitar 7.0° - 7.1° , 10.1° - 10.3° , 12.4° - 12.6° , 16.2° - 16.5° , 21.6° - 21.7° , 23.7° - 23.8° , 27.0° - 27.2° , 29.7° - 29.8° , dan 34.1° - 34.3° . Puncak-puncak ini dapat dibandingkan dengan puncak-puncak dalam difraktogram standar untuk ZA hidrat (COD-ID 8104214) pada daerah 2θ di sekitar 7.0° , 10.0° , 12.2° , 16.0° , 21.8° , 23.9° , 27.0° , 29.7° , 34.1° (Tabel 1). Daerah 2θ ini merupakan puncak ZA dan ditemukan pada ZA (150 menit) dan ZA (240 menit) yang menunjukkan struktur kristalin. Profil puncak yang berbeda ditemukan dalam difraktogram untuk ZA (60 menit) yang masih memperlihatkan struktur amorf.

Difraktogram XRD hasil penelitian ini dibandingkan dengan data standar dari Crystallography Open Database (COD). Daerah 2θ untuk Ag-ZA standar (COD-ID 7108289) memiliki 13 puncak tertinggi/dominan. Meskipun demikian, sampel Ag-ZA (60 menit), Ag-ZA (150 menit), dan Ag-ZA (240 menit) menunjukkan hanya memiliki 7 puncak pada daerah 2θ tertentu di sekitar 14.3° - 14.4° , 16.1° - 16.2° , 20.4° - 20.5° , 24.2° - 24.5° , 27.1° - 27.3° , 30.0° - 30.8° , dan 34.2° - 34.3° . Daerah 2θ ini merupakan puncak untuk Ag-ZA dan daerah ini mirip dengan data Ag-ZA dengan COD-ID 7108289. Daerah 2θ yang lain tidak muncul kemungkinan karena konsentrasi Ag pada sampel relatif sedikit yang ditandai dengan intensitas tiap daerah 2θ relatif rendah dibandingkan dengan standar. Untuk menghitung ukuran nanopartikel Ag-ZA pada sampel digunakan persamaan Scherrer berdasarkan data *Full Width at Half Maximum* (FWHM) dan hasilnya tersaji pada Tabel 3.

Tabel 1. Perbandingan Daerah 2θ

Ag-ZA [Ag ₂₄ Na _{7,4} (Al ₁₂ Si ₁₂ O ₄₈)]	Ag-ZA [Ag ₂₁₂ (Al ₁₂ Si ₁₂ O ₄₈)]	Ag-ZA [Ag _{67,63} (Al ₃₆ Si ₃₆ O _{174,72})]	Sampel Ag-ZA		
			(60 menit 2 θ (°))	(150 menit 2 θ (°))	(240 menit 2 θ (°))
10.1739	13.2312	14.3992	14.3097	14.4224	14.4223
16.0623	16.4494	16.2354	16.1480	16.1758	16.1471
20.6089	20.6089	20.6089	20.5089	20.4925	20.4465
21.7076	21.5180	21.7609	-	-	-
22.6982	22.7899	22.9264	-	-	-
24.0917	24.0042	24.0917	24.2827	24.5709	24.0311
-	25.0259	25.1576	-	-	-
-	26.0492	26.2261	-	-	-
27.4687	27.0628	27.1971	27.3844	27.2005	27.1578
29.7160	29.9153	30.1061	30.1068	30.0527	30.8071
33.9364	33.9864	34.2748	34.3676	34.2753	34.2181
36.6218	35.6195	36.5937			
-	52.2980	52.7829			

Tabel 2. Ukuran kristal nanopartikel Ag-ZA

Ag-ZA	D (nm)
60 menit	17.242
150 menit	52.297
240 menit	70.493

Berdasarkan tabel di atas (Tabel 2) dapat dilihat bahwa ukuran kristal nanopartikel Ag-ZA mengalami kenaikan berdasarkan waktu kristalisasi. Hal ini dapat terjadi karena semakin lama waktu kristalisasi maka semakin besar ukuran partikel (Rasyidi *et al.*, 2008).

Uji Aktivitas Antibakteri

Ukuran zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.aureus* oleh material Ag-ZA hasil sintesis disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Zona hambat Ag-ZA terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*

Sampel	<i>E. Coli</i>			<i>S. Aureus</i>		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Rata-rata (mm)	Ulangan 1	Ulangan 2	Rata-rata (mm)
Ag-ZA (60 menit)	14	10	12	9	11	10
Ag-ZA (150 menit)	9	9	9	10	8	9
Ag-ZA (240 menit)	9	11	10	10	8	9
Kontrol Positif	13	11	12	13	13	13
Kontrol Negatif	0	0	0	0	0	0

Data pada Tabel 4 menunjukkan bahwa sampel Ag-ZA (60 menit) menghasilkan zona hambat paling besar 12 mm untuk bakteri *E. coli* dan 10 mm untuk bakteri *S. aureus*. Informasi pada Tabel 4 ini juga menunjukkan bahwa sampel Ag-ZA dengan berbagai waktu kristalisasi mampu menghambat pertumbuhan bakteri, baik *E.coli* maupun *S.aureus*.

Pada umumnya nanopartikel menempel pada dinding sel bakteri dan menembus membran selnya. Hal ini dapat terjadi karena ukuran bakteri sekitar 0,7-1,2 μm untuk bakteri *S.aureus* dan sekitar 1,1 μm dengan diameter 0,7 μm untuk bakteri *E.coli* (Craig *et al.*, 2006) atau 700-1200 nm dan 1100 nm. Akibat masuknya partikel ini, dinding sel bakteri yang tebal dan kasar menjadi rusak mengakibatkan degradasi serta hilangnya sitoplasma dan menyebabkan kematian sel (Kooti *et al.*, 2014).

Mekanisme lain ditunjukkan oleh penelitian yang dikerjakan oleh Cerrillo *et al.* (2018) yang menunjukkan bahwa Ag-ZA adalah material yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan dari bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Mekanisme antibakteri dari bahan ini diawali dengan pelepasan Ag^+ (Yang & Hu, 2015). Penelitian dari Feng *et al.* (2000) menyarankan bahwa Ag^+ menyebabkan denaturasi molekul DNA terkondensasi sehingga bakteri kehilangan kemampuannya untuk bereplikasi. Selain itu, ion Ag^+ dapat berinteraksi dengan gugus tiol dalam protein bakteri dan kemudian menyebabkannya menjadi tidak aktif. Jung *et al.* (2008) menunjukkan bahwa Ag^+ yang masuk ke dalam media dapat berinteraksi dengan mekanisme yang dibutuhkan oleh bakteri dalam penyerapan dan pemanfaatan substrat untuk pembelahan sel sehingga menyebabkan penyusutan membran sitoplasma dan kematian sel.

Material yang disintesis dalam penelitian ini menunjukkan sifat antibakteri yang lebih efektif terhadap *E.coli*. Sebaliknya, kontrol positif ciprofloxacin lebih efektif terhadap *S.aureus*. Hasil serupa teramati dalam penelitian sebelumnya oleh Wuntu *et al.* (2021) yang menggunakan material antibakteri dengan bahan dasar hidroksiapatit-ZA yang diperlakukan dengan AgNO_3 .

KESIMPULAN

Nanopartikel Ag-ZA dapat disintesis dengan bahan dasar aluminium hidroksida, silikon dioksida, dan AgNO_3 . Ukuran nanopartikel Ag-ZA yang terbentuk pada hasil sintesis adalah 17.242 nm, 52.297 nm dan 70.493 nm, masing-masing untuk Ag-ZA dari ZA yang disintesis dengan variasi waktu *ageing* 60 menit, 150 menit, dan 240 menit. Nanopartikel Ag-ZA yang memiliki aktivitas antibakteri yang terbaik adalah Ag-ZA (60 menit) dengan rata-rata daya hambat yang diperoleh adalah sebesar 12 mm untuk bakteri *E.coli* dan 10 mm untuk bakteri *S.aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Aritonang F. A., Koleangan H., Wuntu A. D., 2019 Synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of medicinal plants (*Impatiens balsamina* and *Lantana camara*) fresh leaves and analysis of antimicrobial activity. *International Journal of Microbiology* 8642303, <https://doi.org/10.1155/2019/8642303>.
- Balkus Jr., K.J. dan K.T. Ly. 1991. The Preparation and Characterization of an X-Type Zeolite: an Experiment in Solid State Chemistry, *J.Chem.Educ.* **64**:875-877
- Cerrillo J. L., Palomares A. E., Rey F., Valencia S., Perez-Gago M. B., Villamon D., Palou L., 2018 Functional Ag-exchanged zeolites as biocide agents. *Chemistry Select* **3**:4676-4682.
- Craig, R. G., Powers J. M., Wataha J. C., 2006. Dental Materials Properties And Manipulation, Ed 12, Missouri: Mosby, pp. 145-146.
- Djide & Sartini. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Farmasi*. Lepas, Makasar.
- Feng Q. L., Wu J., Chen G. Q., Cui F. Z., Kim T. N., Kim J. O., 2000 A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Biomedical Materials Research*, **52(4)**:662-668.
- Henkel, 2004, *Human & Environmental Risk Assessment on Ingredients of European Household Cleaning Products, Zeolite A represented by CAS Number 1344-00-9 (Sodium Aluminium Silicate) and by CAS Number 1318-02-1 (Zeolites)*, Version 3.

- Hrenović, J., Željezić, D., Kopjar, N., Sarpola, A., Bronić, J., Sekovanić, L., 2010, Antimicrobial Activity of Commercial Zeolite A on *Acinetobacter junii* and *Saccharomyces cerevisiae*, *Journal of Hazardous Materials*, **183**: 655-663.
- Jung W. K., Koo H. C., Kim K. W., Shin S., Kim S. H., Park Y. H., 2008 Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, **74(7)**:2171-2178.
- Kooti, M., Kharazi, P., Motamedi, H., 2014. Preparation characterization and antibacterial activity of CoFe₂O₄/polyaniline/Ag nanocomposite. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* **45**.
- Las, T., Zamroni, H., 2007, Penggunaan Zeolit dalam Bidang Industri dan Lingkungan, *Jurnal Zeolit Indonesia*, **1(1)**: 27-34.
- Lee, S., Kim, H., Patel, R., Joon Im, S., Kim, J., Min, B., 2007, Silver Nanoparticles Immobilized on Thin Film Composite Polyamide Membrane: Characterization, Nanofiltration, Antifouling Properties, *Polymer for Advanced Technologies*, **18**: 562-568.
- Payra, P., Dutta, P. K., 2003, *Zeolites: A primer, Handbook of Zeolite Science and Technology*, Marcell Dekker Inc, USA.
- Rasyidi, F. A ., Tumanggor, J ., Yuni, N. P. E. L., 2008, Pengaruh Waktu Kristalisasi dengan Proses Pendinginan Terhadap Pertumbuhan Kristal Amonium Sulfat dari Larutannya. *Jurnal Teknik Kimia*, **2(2)**: 9-16.
- Rivera-Garza, M., Olguin, M.T., Garcia-Sosa, I., Alcantara, D., Rodriguez, F., 2000, Silver Supported on Natural Mexican Zeolite as an Antibacterial Material, *Microporous and Mesoporous Materials*, **39**: 431-444.
- Setyawan, D. H. P., 2002, Preparasi Katalis Cr/Zeilolit Melalui Modifikasi Zeolit Alam, *Jurnal Ilmu Dasar*, **3**: 15-23.
- Warne, M, St, J., and Schifko, A, D., 1999, Toxicity of Laundry Detergent Components to a Freshwater Cladoceran and Their Contribution to Detergent, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **44**: 196-206.
- Wuntu, A. D. 2002. Sintesis dan Karakterisasi Aluminosilikat serupa Zeolit. *Jurnal Ilmiah Sains*, **2(1)**: 4-7.
- Wuntu A. D., Mantiri D. M. H., Paulus J. J. H., Aritonang H. F., 2021. Hydroxyapatite/zeolite-based antibacterial composite derived from Katsuwonus pelamis bones and synthetic A-type zeolite. *AAFL Bioflux*, **14(1)**:612-619.
- Yaohui, L., Liu, H., Wang, Z., Hao, L., Zhan, J., 2008, Antibiotic Glass Slide Coated with Silver Nanopartikel and Its Antimicrobial Capabilities, *Polymer for Advanced Technologies*, **19**: 1455-1460. 29