



Artikel Penelitian

Aktivitas Antibakteri Membran Nanokomposit Kitosan/Nanopartikel Perak

Doni Notriawan^{1*}, Nesbah², Gustria Ernis¹, Muhammad Adeng Fadhila¹, Risky Hadi Wibowo³, Reza Pertiwi⁴,
Vinolla Ilfanisari¹

¹Program Studi D3 Laboratorium Sains, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu, Indonesia, 38371

²Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu, Indonesia, 38371

³Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu, Indonesia, 38371

⁴Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu, Indonesia, 38371

INFO ARTIKEL**Sejarah Artikel**

Diterima 28 Desember 2020

Direvisi 14 April 2021

Tersedia online 15 Juni 2021

*Penulis korespondensi
doninotriawan@unib.ac.id

ABSTRAK

The aim of this study was to make and test the antibacterial activity of chitosan/silver nanoparticles nanocomposite membranes. Nanocomposite membranes were synthesized by chitosan with pluronic using acetic acid as a solvent. Silver nanoparticles were synthesized using the green synthesis method and the makasar fruit (*Brucea javanica* L. Merr) peel extract as a bioreductor. The silver nanoparticles were composited with a chitosan/pluronic mixture and printed on a glass plate. Nanocomposite membranes were characterized using the FTIR spectrophotometer and the scanning electron microscope (SEM). Nanocomposite membrane were tested for antibacterial activity against *Escherechia coli*. The UV-Vis spectra showed the formation of silver nanoparticles which were indicated by the absorption at 454 nm and the absorbance value of 0.405. Characterization using FTIR showed no new functional groups formed in the composites of chitosan and pluronic. SEM results showed the difference between the chitosan membrane and the nanocomposite membrane. The surface of nanocomposite membrane showed uneven compared to the chitosan membrane. Nanocomposite membranes have antibacterial activity to inhibit *E. coli* growth.

Keywords: nanocomposite, chitosan/silver nanoparticles, antibacterial

Penelitian ini bertujuan untuk membuat dan menguji aktivitas antibakteri membran nanokomposit kitosan/nanopartikel perak. Membran nanokomposit dibuat dengan mensintesis kitosan dengan pluronik menggunakan pelarut asam asetat. Nanopartikel perak disintesis menggunakan metode *green synthesis* dengan ekstrak kulit buah makasar (*Brucea javanica* L. Merr) sebagai bioreduktor. Nanopartikel perak dikompositkan dengan campuran kitosan/pluronic dan dicetak di atas plat kaca. Membran nanokomposit dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer FTIR dan *scanning electron microscope* (SEM). Membran nanokomposit dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap *Escherechia coli*. Spektra UV-Vis menunjukkan terbentuknya nanopartikel perak yang ditandai adanya serapan pada panjang gelombang 454 nm dan absorbansi 0,405. Karakterisasi dengan FTIR menunjukkan tidak adanya gugus fungsi baru yang terbentuk pada komposit dari kitosan dan pluronik. Hasil SEM menunjukkan adanya perbedaan antara membran kitosan dengan membran nanokomposit. Permukaan membran nanokomposit terlihat tidak rata dibandingkan membran kitosan. Membran nanokomposit memiliki aktivitas bakteri sehingga dapat mengambat pertumbuhan bakteri *E. coli*.

Kata kunci: nanokomposit, kitosan/nanopartikel perak, antibakteri

1. Pendahuluan

Kitosan merupakan polimer alami terbesar kedua setelah selulosa. Kitosan ramah lingkungan karena bersifat biokompatibel, biodegradabel, dan aktivitasnya dapat diaplikasikan dalam bidang perikanan, pertanian, lingkungan industri, kecantikan, farmasi, kesehatan, dan pangan. Kitosan memiliki aktivitas antibakteri dan telah banyak diaplikasikan dalam bidang kesehatan sebagai film antibakteri [1]. Kitosan dapat dikompositkan dengan material lain untuk meningkatkan sifat yang diinginkan.

Aktivitas antibakteri dari kitosan dapat ditingkatkan dengan mengkompositkan kitosan dengan material yang memiliki aktivitas antibakteri. Komposit merupakan kombinasi dua material atau lebih yang berbeda dan berlainan sifat, dimana material yang satu berfungsi sebagai komponen matriks (bahan pengikat) sedangkan material lainnya berfungsi sebagai komponen *filler* (bahan pengisi) [2]. Penelitian nanokomposit kitosan dengan nanopartikel perak sebagai film antibakteri dan mampu meningkatkan aktivitas antibakteri [3].

Aktivitas antibakteri dari kitosan dapat ditingkatkan dengan mengkompositkan kitosan dengan material yang memiliki aktivitas antibakteri. Komposit merupakan kombinasi dua material atau lebih yang berbeda dan berlainan sifat, dimana material yang satu berfungsi sebagai komponen matriks (bahan pengikat) sedangkan material lainnya berfungsi sebagai komponen *filler* (bahan pengisi) [2]. Penelitian nanokomposit kitosan dengan nanopartikel perak sebagai film antibakteri dan mampu meningkatkan aktivitas antibakteri [3]. Nanopartikel perak (AgNP) memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Pada dekade terakhir telah berkembang biosintesis nanopartikel perak. Biosintesis nanopartikel perak merupakan sintesis nanopartikel perak menggunakan pereduksi dari bahan alam. Beberapa bahan alam mampu menjadi agen pereduksi dalam biosintesis nanopartikel perak seperti *Capsicum annum* L. [4], *Azadirachta* [5], dan *Brucea javanica* L. Merr [6].

Nanopartikel perak memiliki sifat antimikrobal yang efektif pada bermacam-macam organisme termasuk bakteri patogen. Oleh karena itu, nanopartikel perak dapat diaplikasikan dalam proses desinfeksi pada pengolahan air maupun air limbah. Sintesis nanopartikel perak dapat dilakukan dengan berbagai cara salah satunya sintesis nanopartikel perak secara kimia menggunakan senyawa pereduksi trisodium sitrat yang dicampurkan pada larutan perak nitrat (AgNO_3) [7]. Mekanisme nanopartikel perak dalam menghambat bakteri terjadi dengan cara berinteraksi dengan membran bakteri. Proses penghambatan diawali dengan nanopartikel perak menumpuk di permukaan membran bakteri, menembus ke dalam bakteri, dan mengakibatkan terjadinya perubahan permeabilitas membran bakteri. Proses tersebut menyebabkan kerusakan pada bakteri dan akhirnya membunuh bakteri. Perusakan membran bakteri dipengaruhi oleh parameter nanopartikel perak yang meliputi ukuran, bentuk, dan permukaan. Nanopartikel perak yang memiliki ukuran yang kecil dapat berinteraksi dengan lapisan lignin pelindung pada bakteri dengan lebih baik [8].

Wang dkk [9] melakukan penelitian mengkompositkan kitosan dengan nanopartikel perak. Kitosan pada penelitian tersebut berfungsi sebagai agen pereduksi dari sintesis nanopartikel perak. Pada penelitian ini akan dilakukan sintesis nanokomposit kitosan dengan nanopartikel perak yang sebelumnya disintesis dengan kulit buah *Brucea javanica* L. Merr dan ditambahkan surfaktan pluronik. Pluronik merupakan surfaktan yang berfungsi sebagai porogen dan menambah sifat hidrofilik dari membran [10].

2. Bahan dan Metode

2.1. Bahan

Bahan yang digunakan penelitian ini yaitu kitosan (Farmasi Grade), pluronik (Poloxamer 407), AgNO_3 (Merck), kulit buah makasar (*Brucea javanica* L. Merr) dan asam asetat 99% (p.a).

2.2. Biosintesis Nanopartikel Perak

Biosintesis nanopartikel perak dengan agen pereduksi dari buah makasar. Nanopartikel perak disintesis dengan cara 4 mL 0,001 N AgNO_3 direaksikan dengan 1 mL ekstrak kulit buah makasar. Campuran koloid kemudian dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui apakah nanopartikel perak sudah terbentuk. Nanopartikel perak yang terbentuk akan dikompositkan dengan membran kitosan/pluronik.

2.3. Pembuatan Membran Nanokomposit

Pembuatan nanokomposit diawali dengan membuat campuran kitosan/pluronik dengan perbandingan 1,5 kitosan dan pluronik (variasi 0,25 dan 0,5) dilarutkan dengan larutan asam asetat 1%. Campuran dilakukan pengadukan selama 1 jam dengan tujuan agar kitosan dan pluronik larut sempurna. Campuran kemudian ditambahkan nanopartikel perak hasil sintesis. Campuran diaduk kembali selama 30 menit agar nanopartikel perak tersebar merata. Campuran dicetak di atas kaca dan didiamkan hingga asam asetat yang terkandung dalam campuran menguap.

2.4. Karakterisasi Membran Nanokomposit

Karakterisasi membran menggunakan *scanning electron microscope* (SEM) dan spektrofotometer FTIR. SEM digunakan untuk melihat morfologi permukaan membran dan spektrofotometer FTIR bertujuan untuk melihat gugus fungsi yang terdapat pada membran.

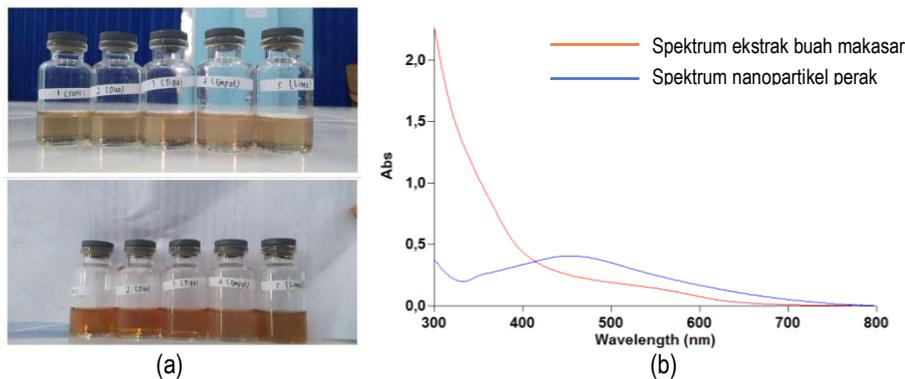
2.5. Uji Aktivitas Antibakteri

Bakteri target yang digunakan pada pengujian ini adalah *Escherichia coli* ATCC 8739. Satu ose bakteri target *E. coli* dikulturkan pada media Trypticase Soy Broth (TSB) dan diinkubasi pada inkubator goyang selama 24 jam pada suhu 27°C. Sebanyak 1 mL atau 1% suspensi bakteri target diinokulasikan ke dalam 100 mL media Trypticase Soy Agar (TSA) yang masih cair, dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 2 menit dan dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah bakteri target di dalam media TSA memadat, sampel perlakuan kemudian diinokulasikan di atas media TSA. Perlakuan dibentuk seperti kertas cakram berdiameter 6 mm yang terdiri dari P1 (membran nanokomposit), membran kitosan, kontrol negatif (air) dan kontrol positif (krim silver sulfadiazine 0,015 mg dilarutkan dalam 100 mL aqua demineralisasi). Sebanyak 20 µL perlakuan kontrol positif diteteskan ke dalam kertas cakram steril. Pengujian perlakuan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Tiap pengujian perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali. Aktivitas bakteri dari perlakuan ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri target.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Biosintesis Nanopartikel Perak

Pembuatan nanopartikel perak dengan memodifikasi metode yang dilakukan oleh [6]. Pembuatan dilakukan dengan menambahkan ekstrak kulit kering buah makasar dengan larutan AgNO₃ dengan konsentrasi 0,001 N. Terbentuknya nanopartikel perak terlihat dengan ciri-ciri warna campuran yang semula kuning menjadi coklat keabuan seperti yang terlihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. (a). Perubahan warna campuran nanopartikel perak dari sintesis AgNO₃ dengan agen pereduksi kulit kering buah makasar dan (b) Hasil karakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Proses biosintesis nanopartikel perak menggunakan buah makasar terbentuk dikarenakan adanya reaksi yang terjadi antara senyawa polifenol dengan Ag⁺. Buah makasar memiliki kandungan senyawa polifenol, tanin, dan alkaloid [11]. Nanopartikel perak yang telah disintesis kemudian dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Karakterisasi ini dilakukan bertujuan menganalisis *surface plasmon resonance* (SPR) yang terjadi pada koloid nanopartikel perak [12]. Nanopartikel perak umumnya memiliki kisaran serapan pada panjang gelombang 410-455 nm. Pada biosintesis nanopartikel perak yang disintesis menggunakan buah makasar menunjukkan puncak serapan pada panjang gelombang 454 nm dengan nilai absorbansi 0,405. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa nanopartikel perak yang dihasilkan telah terbentuk.

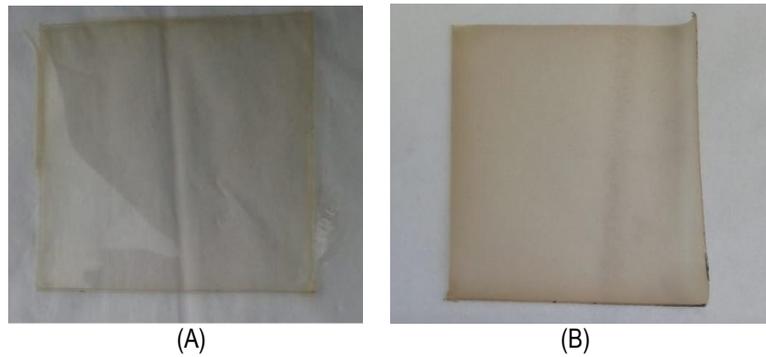
3.2. Membran Nanokomposit

Pembuatan nanokomposit diawali dengan membuat campuran kitosan/pluronic dengan perbandingan 1,5 kitosan dan 0,5 pluronic dan dilarutkan dengan larutan asam asetat 1%. Campuran dilakukan pengadukan selama 1 jam dengan tujuan agar kitosan dan pluronic larut sempurna. Campuran kemudian ditambahkan nanopartikel perak hasil sintesis menggunakan ekstrak kulit buah makasar. Membran nanokomposit dicetak di atas kaca yang telah diberi pembatas. Membran nanokomposit yang terbentuk memiliki warna yang bening kecoklatan seperti pada **Gambar 2**.

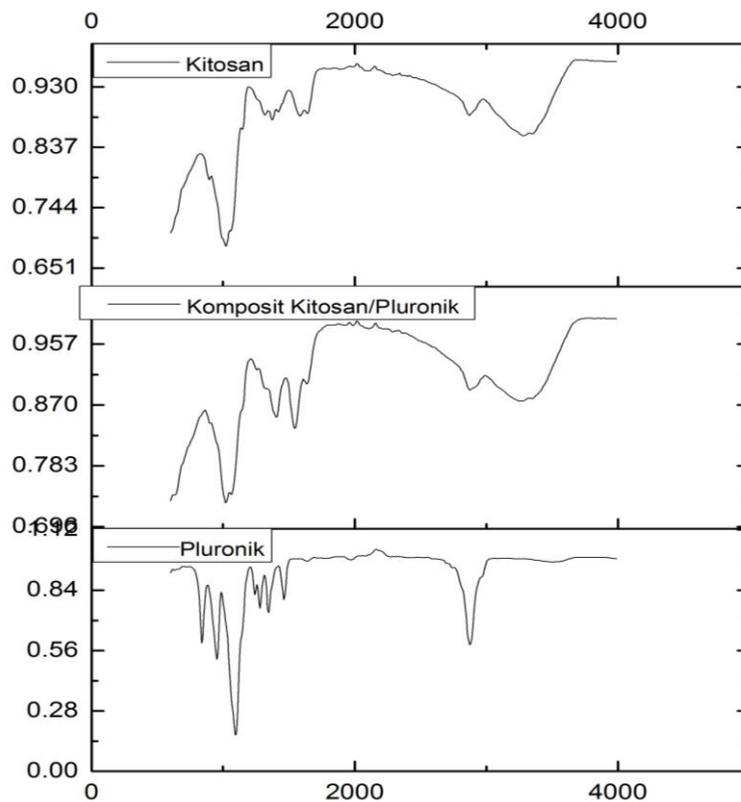
3.3. Karakterisasi Membran Nanokomposit

3.3.1. Karakterisasi dengan FTIR

Hasil karakterisasi membran kitosan/pluronik menggunakan FTIR menunjukkan adanya tumpang tindih yang menandai membran mengandung komposit kitosan dan pluronik. Pada hasil spektrum dari pluronik menunjukkan adanya absorpsi pada 2800 dan 1000 cm^{-1} yang merupakan vibrasi regangan dari C-O-C dan CH_2 . Pada spektrum kitosan dan kitosan/pluronik memiliki kesamaan hasil spektrum pada **Gambar 3** yang menunjukkan adanya puncak yang tumpang tindih dari gugus OH dan NH. Pada membran kitosan dan nanokomposit terdapat puncak vibrasi regangan dari grup C-O-C pada 1000 cm^{-1} [13].



Gambar 2. (A) Membran kitosan dan (B) Membran nanokomposit

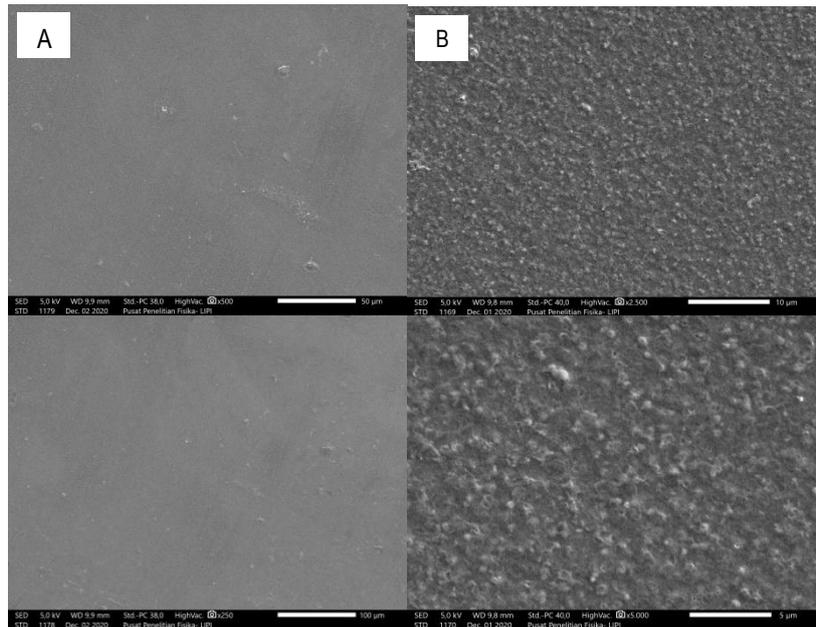


Gambar 3. Hasil karakterisasi menggunakan spektrofotometer FTIR.

3.3.2. Karakterisasi dengan SEM

Karakterisasi menggunakan SEM bertujuan untuk melihat morfologi dari membran nanokomposit yang dihasilkan. Morfologi membran nanokomposit dibandingkan dengan morfologi dari membran kitosan. Berdasarkan hasil karakterisasi menggunakan SEM menunjukkan adanya perbedaan morfologi membran kitosan dan nanokomposit. Membran kitosan menghasilkan morfologi membran yang halus seperti pada **Gambar 4**. Hasil berbeda ditunjukkan dari membran nanokomposit. Membran nanokomposit menghasilkan morfologi permukaan yang lebih kasar dan menunjukkan adanya

pori pada membran. Pori tersebut terbentuk dengan adanya pluronik yang berfungsi sebagai porogen. Porogen yang terbentuk dikarenakan adanya penambahan surfaktan pada sintesis membran nanokomposit. Hal ini didukung pada penelitian pembuatan membran selulosa asetat menggunakan pluronik menghasilkan membran yang memiliki pori.



Gambar 4. Hasil karakterisasi menggunakan SEM: (A) Membran kitosan dan (B) Membran nanokomposit.

3.4. Uji Aktivitas Antibakteri Membran Nanokomposit

Uji antibakteri membran nanokomposit dilakukan menggunakan bakteri *Escherichia coli* ATCC 8739. Dari hasil pengujian membran nanokomposit menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan dari bakteri. Membran nanokomposit memiliki zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan membran kitosan (Tabel 1). Nanokomposit memiliki zona hambat lebih besar dikarenakan nanokomposit memiliki pori sehingga nanopartikel perak dapat terimobilisasi dengan baik. Membran kitosan memiliki diameter zona hambat tertinggi yaitu 7,6 mm. Membran nanokomposit memiliki zona hambat 13,6 mm dengan kandungan pluronik 0,25 g. Kitosan merupakan polimer yang memiliki sifat antibakteri. Hasil menunjukkan adanya peningkatan aktivitas antibakteri pada membran nanokomposit. Peningkatan aktivitas antibakteri terjadi dikarenakan adanya penambahan nanopartikel perak pada membran nanokomposit. Nanopartikel perak merupakan material nanopartikel yang memiliki sifat antibakteri. Membran nanokomposit MN1 dan MN2 memiliki hasil yang hampir sama dalam aktivitas antibakteri. Hal ini menunjukkan tidak ada pengaruh variasi pemberian pluronik pada membran.

Tabel 1. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri

Perlakuan	Diameter (mm)					Kategori Zona Hambat Davis dan Stout [14]
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-Rata	Standar Deviasi	
Ki ₁	7,6	7,2	6,7	7,16	0,45	Sedang
Ki ₂	6,5	6,7	7,1	6,76	0,30	Sedang
Ki ₃	7,4	7,1	6,7	7,06	0,35	Sedang
MN1 ₁	8,5	8,3	7,9	8,23	0,30	Sedang
MN1 ₂	13,6	12,9	13,3	13,26	0,35	Kuat
MN1 ₃	8,8	8,3	8,7	8,6	0,26	Sedang
MN2 ₁	8,2	8,8	9,4	8,8	0,60	Sedang
MN2 ₂	7,5	9,2	8,8	8,5	0,88	Sedang
MN2 ₃	8,2	8,5	8,0	8,23	0,25	Sedang
K+	11,5	11,2	10,9	11,2	0,30	Kuat
K- (Akuades)	-	-	-	-	-	-

Ki adalah membran kitosan, MN1 adalah membran nanokomposit dengan perbandingan (1,5:0,25), MN2 adalah membran nanokomposit dengan perbandingan (1,5:0,5), K+ adalah kontrol positif, dan K- adalah kontrol negatif.

Nanopartikel perak telah banyak digunakan dalam bidang kesehatan. Nanopartikel perak dapat berfungsi sebagai antibakteri dikarenakan nanopartikel perak dapat berinteraksi dengan membran bakteri sehingga menyebabkan kerusakan membran bakteri yang selanjutnya akan membunuh bakteri. Nanopartikel perak pertama kali menyerang di permukaan

membran bakteri, menembus ke dalam bakteri, dan akhirnya mengubah permeabilitas membran bakteri. Mekanisme tersebut menyebabkan kerusakan pada membran. Sifat antibakteri dari membran nanopartikel perak bergantung dari ukuran, bentuk, dan permukaan yang menentukan keberhasilan dalam merusak selaput bakteri. Nanopartikel perak dengan ukuran yang kecil dapat berinteraksi dengan lapisan lignin pelindung pada bakteri dengan lebih baik [8].

4. Kesimpulan

Membran nanokomposit yang disintesis menggunakan kitosan/nanopartikel perak menghasilkan membran yang memiliki pori dan terkomposit. Pori-pori membran terbentuk dikarenakan menggunakan surfaktan pluronik. Nanopartikel perak yang digunakan disintesis menggunakan metode biosintesis dengan ekstrak kulit buah makasar. Membran nanokomposit memiliki sifat antibakteri yang menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* ATCC 8739.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada Universitas Bengkulu selaku pemberi dana hibah penelitian pembinaan tahun 2020.

Daftar Pustaka

- [1] A. Regiel, S. Irusta, A. Kyzioł, M. Arruebo, & J. Santamaria, "Preparation and Characterization of Chitosan–Silver Nanocomposite Films and Their Antibacterial Activity against *Staphylococcus aureus*," *Nanotechnology*, vol. 24, no. 1, 2013.
- [2] D. H. L. Chung, *Composite Materials, Science and Applications 2*. London: Springer-Verlag, 2010.
- [3] V. Thomas, M. M. Yallapu, B. Sreedhar, & S. K. Bajpal, "Fabrication, Characterization of Chitosan/Nanosilver Film and Its Potential Antibacterial Application," *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, vol. 20, no. 14, pp. 2129–2144, 2009.
- [4] S. Li, Y. Shen, A. Xie, X. Yu, L. Qiu, L. Zhang, & Q. Zhang, "Green Synthesis of Silver Nanoparticles using *Capsicum annuum* L. Extract," *Green Chemistry*, vol. 9, no. 8, pp. 852-858, 2007.
- [5] S. Ahmed, Saifullah, M. Ahmad, B. L. Swami, & S. Ikram, "Green Synthesis of Silver Nanoparticles using *Azadirachta indica* Aqueous Leaf Extract," *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, vol. 9, no. 1, pp.1-7, 2016.
- [6] S. Yudha, D. Notriawan, E. Angasa, T. E. Suharto, J. Hendri, & Y. Nishina, "Green Synthesis of Silver Nanoparticles using Aqueous Rinds Extract of *Brucea javanica* (L.) Merr at Ambient Temperature," *Materials Letters*, vol. 97, pp.181-183, 2013.
- [7] A. Haryono, D. Sondari, S. B. Harnami, & M. Randy, "Sintesa Nanopartikel Perak dan Potensi Aplikasinya," *Jurnal Riset Industri*, vol. 2, no. 3, pp. 155-163, 2008.
- [8] K. Zheng, M. I. Setyawati, D. T. Leong, & J. Xie, "Antimicrobial Silver Nanomaterials," *Coordination Chemistry Reviews*, vol. 357, pp.1-17, 2018.
- [9] L.-S. Wang, C.-Y. Wang, C.-H. Yang, C.-L. Hsieh, S.-Y. Chen, C.-Y., Shen, J.-J. Wang, & K.-S. Huang, "Synthesis and Anti-Fungal Effect of Silver Nanoparticles–Chitosan Composite Particles," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 10, pp. 2685-2696, 2015.
- [10] S. Mulijani, D. Iswantini, R. Wicaksono, & D. Notriawan, "Optical Sensor Based Chemical Modification as a Porous Cellulose Acetate Film and Its Application for Ethanol Sensor," in *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering International Conference on Advanced Material for Better Future 2017*, vol. 333, no. 012014, 2018.
- [11] A. Widiyantoro, E. R. P. Wardoyo, & E. Sayekti, "Activity of Makasar Fruit (*Brucea javanica* L. Merr) on Radical Anion Superoxide in Vivo," *Jurnal Penelitian Saintek*, vol. 15, no. 1, 2010.
- [12] A. B. Junaidi, A. Wahyudi, & D. Umaningrum, "Kajian Sintesis Nanopartikel Perak pada Komposit Kitosan dan Polietilen Glikol: Efek Jenis Agen Pereduksi Organik," dalam *Prosiding Seminar Nasional Kimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Surabaya*, 2015, pp. 148-156.
- [13] E. Savitri, N. Soeseno, & T. Adiarto, "Sintesis Kitosan, Poli(2-Amino-2-Deoksi-D-Glukosa), Skala Pilot Project dari Limbah Kulit Udang Sebagai Bahan Baku Alternatif Pembuatan Biopolimer," dalam *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan"*, 2010, pp. 1-10.
- [14] W.W. Davis & T.R. Stout, "Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay," *Applied Microbiology*, vol. 22, no. 1, pp. 659-665, 1971.