

Sintesis dan Aplikasi Nanopartikel Kitosan Sebagai Adsorben Cd dan Antibakteri Koliform

SWARA YUDHASASMITA¹ DAN ANDHIKA PUSPITO NUGROHO¹

¹Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

Jl. Teknik Selatan, Sekip Utara, Yogyakarta 55281

email: swarayudha@mail.ugm.ac.id; andhika_pn@ugm.ac.id

ABSTRACT

Chitosan is a derivative compound of chitin which has a linear polysaccharide composed of β -(1-4)-linked d-glucosamine and N-acetyl-d-glucosamine. This compound is found in shrimp shell. In nanoparticle form, chitosan has a great antibacterial activity and adsorption ability rather than normal form. The aims of this study are to study the effect of concentration chitosan nanoparticle to adsorb cadmium and its antibacterial effect on coliform. This research was started with synthesis of chitosan nanoparticles using acetic acid 2% and TPP 0,1 %, then the sampel was dried by spray dryer. For cadmium adsorption test was conducted by giving chitosan nanoparticle of 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, and 0.5 g, respectively, into Cd solution with the concentration of 7 ppm and was filtered with the Whatman paper number 42 (n=3). Cadmium contents in the filtrates and pellets were analyzed by using AAS. For antibacterial test with *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* were conducted by disc diffusion method, contained of 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, and 0.5 g, respectively, were dissolved in 50 ml of 1% acetic acid. Data were analyzed by using oneway ANOVA followed by LSD. Based on the results, the optimum adsorption of cadmium present in addition of 0.4 g/ 50mL, can reduce Cd concentration by 98,7%. For the antibacterial test, the addition of 0.4 g/50mL is the largest zone of inhibition *Salmonella thypimurium* and *Escherichia coli*.

Keywords: antibacterial coliform, cadmium adsorbent, chitosan nanoparticle

INTISARI

Kitosan merupakan senyawa derivat dari kitin yang memiliki linear polisakarida yang tersusun dari β -(1-4)-linked d-glucosamine dan N-acetyl-d-glucosamine. Senyawa ini banyak terkandung dalam kulit udang. Dalam bentuk nanopartikel, kitosan memiliki aktivitas antibakteri dan adsorpsi yang lebih baik jika dibandingkan dalam bentuk biasa. Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh konsentrasi kitosan nanopartikel terhadap pengikatan cadmium (Cd) dan efeknya pada aktivitas antibakteri koliform. Penelitian ini dimulai dengan sintesis senyawa nanopartikel kitosan dengan larutan asam cuka 2% dan TPP 0,1, kemudian larutan dikeringkan dengan *spray drier*. Uji adsorpsi logam cadmium dilakukan dengan menambahkan 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5 gram nanopartikel kitosan ke dalam larutan cadmium dengan konsentrasi 7 ppm, dan disaring dengan kertas Whatman no 42 (n=3). Kandungan Cd dalam filtrat dan residu ditentukan dengan AAS. Uji antibakteri terhadap *Salmonella typhimurium* dan *Escherichia coli* dilakukan dengan metode cakram, yang mengandung 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5 gram nanopartikel kitosan dalam 50 ml asam cuka 1%. Data kemudian dianalisis dengan *oneway ANOVA* dilanjutkan dengan LSD, apabila ditemukan beda nyata. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pengikatan optimum Cd terjadi pada penambahan kitosan sebanyak 0,4 g/50 mL asam cuka, dengan penurunan sebesar 98,7%. Pada uji antibakteri, penambahan kitosan 0,4 g/50 mL asam cuka menunjukkan penghambatan tertinggi terhadap pertumbuhan *S. typhimurium* dan *E. coli*.

Kata kunci: adsorben cadmium, antibakteri koliform, nanopartikel kitosan

PENDAHULUAN

Pertumbuhan industri di Indonesia telah menimbulkan dampak merugikan bagi lingkungan. Konsentrasi pencemar dalam ekosistem akuatik, seperti pencemar organik, mikrobial patogen, dan logam berat, menunjukkan peningkatan dari tahun ke tahun, mengarah pada penurunan kualitas lingkungan. Kadmium (Cd) merupakan salah satu logam yang telah diketahui menjadi pencemar ekosistem akuatik. Menurut Bradl (2005) sumber kadmium terbesar berasal dari penambangan yang mencapai 65%. Dibandingkan dengan logam timbal dan nikel, kadmium memiliki emisi terbesar di atmosfer hingga mencapai 6 juta ton per tahunnya. Selain digunakan dalam pembuatan baterai, kadmium digunakan dalam pembuatan stabilisator plastik, pembakaran batu bara, dan pelapis logam antikorosi. Di alam, kadmium tersedia dalam bentuk Cd^{2+} dan bersifat toksik pada konsentrasi rendah (USGS, 2008).

Kehadiran senyawa kadmium di alam menyebabkan berbagai permasalahan yang serius terhadap organisme yang hidup di sekitarnya. Kehadiran senyawa kadmium menyebabkan berbagai penyakit seperti kanker paru-paru, kanker prostat, dan kanker pankreas. Pada tumbuhan, kehadiran kadmium menyebabkan efek toksik seperti mempengaruhi aktivitas enzim pada fotosintesis, mengurangi kadar klorofil, mempengaruhi pembukaan serta penutupan stomata pada daun. Sedangkan pada manusia, kadmium menyebabkan gangguan metabolisme kalsium, vitamin D, kolagen, dan menyebabkan degenerasi tulang seperti *osteomalachia* (Bradl, 2005).

Bakteri koliform merupakan kelompok bakteri yang dijadikan sebagai indikator pencemaran lingkungan perairan. Menurut surat keputusan Dirjen POM Nomor: 037267/B/SK/VII/89, batas maksimum pencemaran koliform di lingkungan perairan dengan menggunakan metode MPN, yaitu < 3 individu per gram atau per ml, sedangkan batas untuk mikrobial *E. coli* dan *Salmonella thypi* sebesar 0. Kehadiran pencemar mikrobial dan logam di lingkungan perairan menyebabkan penurunan kualitas lingkungan.

Berbagai metode untuk mengatasi pencemaran air telah dilakukan, seperti elektro dialisis, membran pemisah, dan adsorpsi. Di antara metode tersebut, biosorpsi merupakan metode yang diakui dapat mengatasi pencemaran logam berat. Nanopartikel kitosan merupakan kitosan dalam bentuk nanopartikel yang dapat mencapai ukuran hingga 1000 nm dan memiliki zeta potensial positif berkisar antara +20mV hingga +60mV (Calvo *et al.*, 1997). Dalam bentuk nanopartikel, kitosan memiliki kemampuan adsorpsi yang lebih baik, karena memiliki permukaan yang spesifik, ukuran kecil, dan efek ukuran kuantum, sehingga efisiensi dalam menyerap ion logam menjadi lebih tinggi (Sivakami *et al.*, 2013). Di samping itu, kemampuan kitosan dalam bentuk nanopartikel juga memiliki aktivitas yang besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri karena dapat langsung *teruptake* ke dalam sel bakteri (Cauerhff *et al.*, 2013). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas nanopartikel kitosan dalam menangani pencemaran air seperti bakteri koliform dan kadmium.

METODE

Preparasi Nanopartikel Kitosan.

Preparasi nanopartikel kitosan mengacu pada metode (Calvo *et al.*, 1997). Nanopartikel kitosan disintesis dengan metode *ionic gelation*. Konsentrasi kitosan dilarutkan dalam larutan asam asetat dengan variasi konsentrasi kitosan: 0,05%; 0,1%; 0,5%; dan 1% (w/v). Konsentrasi asam asetat 1,75 kali lebih tinggi dari konsentrasi kitosan. Kemudian TPP dilarutkan dalam akuades dengan konsentrasi yang sama yaitu 0,05%; 0,1%; 0,5% dan 1% (w/v). Variabel volume larutan TPP (0,25; 1,0; 2,0; 2,5; dan 3 mL) di tambahkan ke dalam 5 mL larutan kitosan dan diaduk dengan *magnetic stirrer*. Sedangkan untuk optimasi dalam penelitian ini konsentrasi kitosan dalam asam asetat yaitu 3 gram dalam 1 L (0,3%) dan konsentrasi asam asetat yang digunakan yaitu 2%. Sebanyak 200 ml Tripolifosfat (1mg/mL) ditambahkan secara perlahan ke dalam larutan kitosan dan diaduk dengan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 1200 rpm. Kemudian nanopartikel dikeringkan

dengan menggunakan Spray Dryer pada suhu 180 C

Karakterisasi Nanopartikel Kitosan.

Sampel nano kitosan dalam bentuk cair dianalisis ukurannya dengan menggunakan alat PSA (*Particle Size Analyzer*) di Laboratorium MIPA Institut Pertanian Bogor. Pembentukan nanopartikel terjadi pada *range* 10-1000 nanometer.

Uji Adsorpsi Nanopartikel Kitosan.

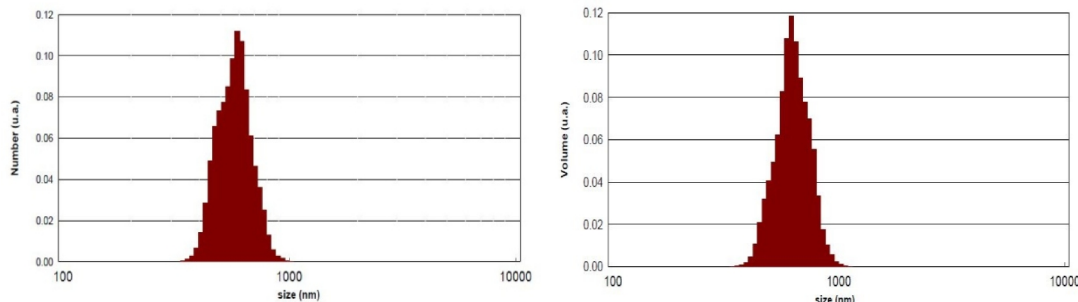
Uji adsorpsi dilakukan dengan menambahkan sebanyak 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5 gram nanopartikel kitosan ke dalam Erlenmeyer 100 mL. Selanjutnya 50 mL larutan kadmium 7 ppm dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, pengadukan dilakukan dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 15 menit. Larutan tersebut disaring dengan kertas whatman no. 42, selanjutnya dilakukan analisis kandungan Cd dalam filtrat (supernatan) dan pelet yang diperoleh.

Uji Antibakteri Dengan Metode Cakram.

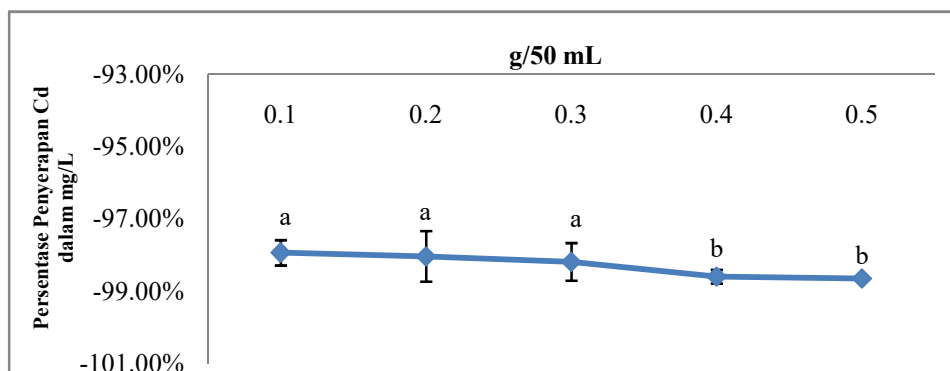
Uji antibakteri dilakukan dengan menggunakan bakteri koliform *E. coli* dan *S. typhimurium*. Sebanyak 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; dan 0,5 gram nanopartikel kitosan dilarutkan kedalam asam asetat 1% volume 50 mL. Kemudian kertas cakram whatman 42 dimasukkan kedalam berbagai konsentrasi kitosan tersebut dan diletakkan kedalam medium NA yang telah mengandung bakteri koliform. Petridisk kemudian diinkubasi selama 1 hari dengan suhu ruangan.

Analisis Data. Data kandungan Cd dalam filtrat dan pellet, dan zona jernih, dianalisis dengan *one way ANOVA* ($\alpha=5\%$), dengan besarnya penambahan nanopartikel kitosan sebagai variabel independen. Apabila hasil ANOVA menunjukkan beda nyata maka dilanjutkan dengan pengujian LSD.

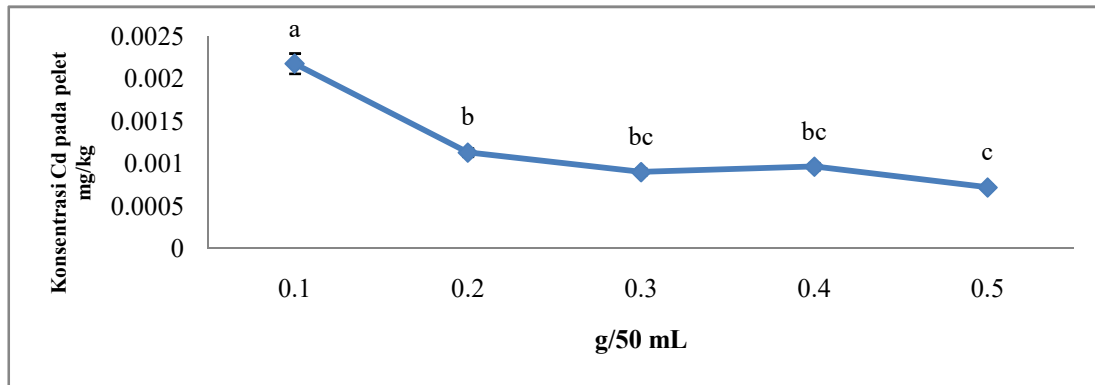
HASIL



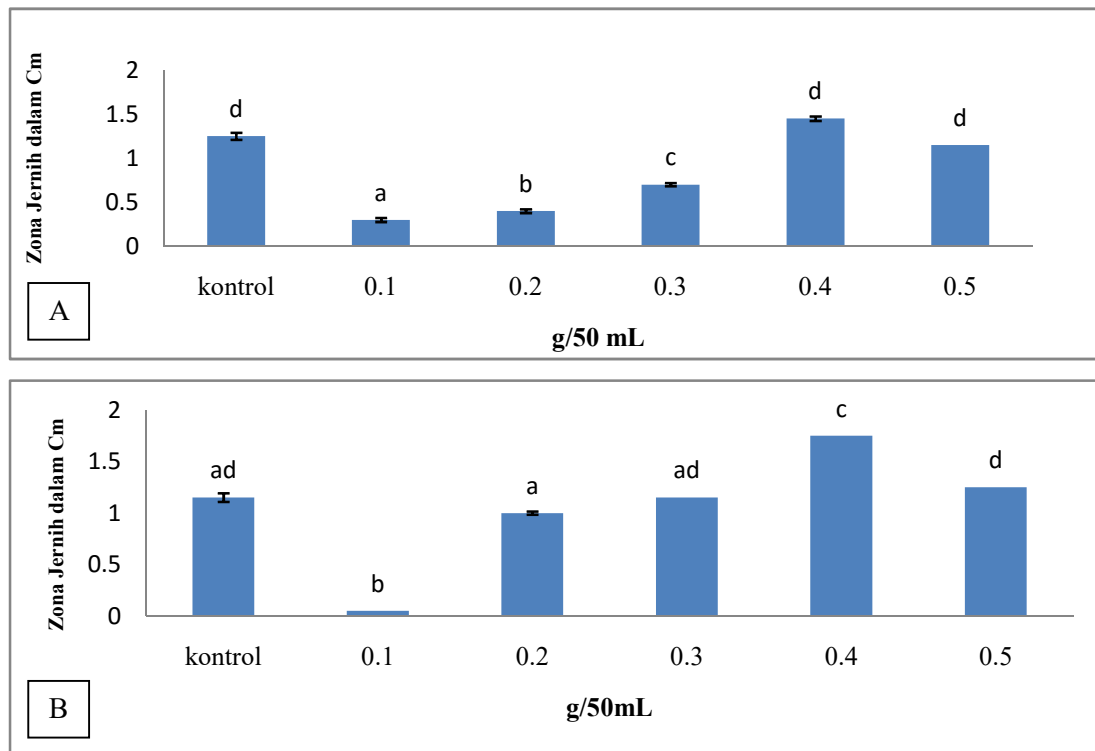
Gambar 1. Analisis *Particle Size Analyzer* berdasarkan jumlah partikel dan volume



Gambar 2. Penurunan kandungan Cd dalam medium cair



Gambar 3. Analisis Cadmium pada Filtrat dan Residue



Gambar 4. Diameter zona jernih (A) *Escherichia coli* dan (B) *Salmonella typhimurium*

PEMBAHASAN

Sintesis Nanopartikel Kitosan Dengan Optimasi. Pada penelitian ini, pembuatan nanopartikel mengacu pada metode Calvo *et al.* (1997) dengan optimasi. Metode ini dimulai dengan melarutkan kitosan sebanyak 0,3% ke dalam asam asetat 2% dengan kondisi pH 3.92. Hal ini dikarenakan pada konsentrasi 0,3% kitosan dapat membentuk nanopartikel serta menghasilkan serbuk yang lebih banyak dibandingkan konsentrasi yang rendah. Penggunaan asam asetat 2% sebagai pelarut kitosan, karena sifat kitosan yang tidak dapat

larut dalam air. Konsentrasi asam asetat 2% merupakan konsentrasi yang tepat agar kitosan dapat dilarutkan dengan sempurna. Kitosan hanya dapat larut dalam pelarut dan pH yang asam (Aranaz *et al.*, 2009). Kemudian ditambahkan larutan TPP 0,1% dengan menggunakan pipet tetes dengan perbandingan larutan kitosan dan TPP, yaitu 1:5. Fungsi penambahan TPP ini yaitu sebagai reagen crosslinker. Penambahan reagen TPP dengan konsentrasi 0,1 % merupakan konsentrasi yang optimum untuk membentuk partikel berukuran nano.

Dari hasil analisis PSA, volume partikel terkecil dalam penelitian ini yaitu 426,69 nm. Sedangkan partikel yang memiliki volume terbesar, yaitu terdapat dalam partikel yang berukuran 616,76 nm. Pada analisis jumlah partikel, jumlah paling sedikit berukuran 389,15 nm, sedangkan jumlah partikel terbanyak berukuran 589,00-616,76 nm. Menurut Mohanraj and Chen (2006), nanopartikel merupakan butiran atau partikel padat yang memiliki ukuran 10-1000nm. Berdasarkan ukuran tersebut, sampel larutan pada penelitian ini telah berbentuk nanopartikel. Bentuk ukuran partikel banyak dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya konsentrasi TPP, konsentrasi larutan kitosan, rasio volume larutan kitosan dan TPP, lama pengadukan, kecepatan pengadukan, dan lamanya waktu penyimpanan (Calvo *et al.*, 1997; Mardiyati dkk., 2012; Fabregas *et al.*, 2013; Supitjah *et al.*, 2011).

Uji Adsorpsi Nanopartikel Kitosan.

Pada penelitian ini sampel yang dianalisis kandungan logam yaitu pada filtrat dan pelet nanopartikel kitosan. Penambahan nanopartikel kitosan ke dalam medium cair yang mengandung Cd (7 ppm) menyebabkan penurunan kandungan Cd dalam medium tersebut (Gambar 2). Penurunan tertinggi terjadi pada medium cair dengan penambahan 0,5 g/50mL nanopartikel kitosan, yaitu sebesar 98,7%. Berdasarkan gambar tersebut, semakin besar penambahan nanopartikel kitosan, maka penurunan kandungan Cd dalam medium cair (filtrat) semakin besar. Namun, peningkatan jumlah nanopartikel kitosan yang ditambahkan pada medium cair menyebabkan penurunan kandungan Cd dalam medium secara signifikan ($P < 0,05$). Berdasarkan uji LSD, penambahan nanopartikel kitosan optimum terjadi pada penambahan 0,4 g/50mL.

Penurunan kandungan Cd dalam medium cair (filtrat) (Gambar 2) disebabkan pengikatan Cd oleh nanopartikel kitosan. Hal ini ditunjukkan dengan peningkatan kandungan Cd dalam nanopartikel tersebut (Gambar 3). Analisis pelet kandungan nanopartikel kitosan menunjukkan bahwa pada setiap perlakuan memiliki perbedaan nyata. Pada proses adsorpsi, pH larutan kadmium yaitu 7,66

sedangkan untuk kecepatan putaran yaitu 1200 rpm. Pengikatan tertinggi terjadi pada penambahan 0,1 g/50mL nanopartikel, dengan kandungan kadmium mencapai 0.002 mg/kg.

Sedangkan pada perlakuan terendah, yaitu pada pemberian 0,5 g/50mL, pengikatan hanya sebesar 0,00072 mg/kg. Hasil tersebut tidak sesuai dengan penelitian sebelumnya mengenai uji adsorpsi logam berat dengan menggunakan nanopartikel kitosan. Hal ini dapat dikarenakan pada saat proses penyaringan dengan menggunakan kertas saring, nanopartikel yang tersaring masih banyak menempel pada bagian permukaan kertas. Hal ini dapat dilihat dengan semakin sedikitnya berat nanopartikel kitosan yang dikeringkan dibandingkan pada saat perlakuan. Selain itu, penurunan ini dapat optimum pada 0,1 g/50mL dikarenakan konsentrasi larutan Cd awal yang relatif rendah. Hal ini disertai dengan volume larutan Cd yang relatif sedikit yaitu 50 mL sehingga membuat proses pengadukan tidak berjalan dengan baik. Berdasarkan pada penelitian Sivakami *et al.* (2013), menyatakan bahwa dengan perlakuan konsentrasi awal yang berbeda, dan dosis adsorben yang sama, akan berpengaruh dalam proses penyerapan yang terjadi. Semakin besar konsentrasi awal larutan logam, maka semakin besar penyerapan yang terjadi. Selain itu, besarnya adsorben yang ditambahkan merupakan faktor yang mempengaruhi penurunan logam. Hal ini dikarenakan kehadiran gugus amina pada nanopartikel kitosan.

Pengikatan logam oleh nanopartikel kitosan dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain kecepatan pengadukan, pH, waktu pengadukan, dan konsentrasi awal larutan mengandung logam.

Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan.

Dalam penelitian ini, penggunaan bakteri *E. coli* dan *S. typhimurium* merupakan representasi bakteri yang mencemari perairan. Uji antibakteri dilakukan dengan melarutkan nanopartikel kitosan ke dalam asam asetat 1%. Asam asetat digunakan sebagai pelarut karena sifat kitosan yang tidak dapat larut dalam air, hanya dapat larut dalam kondisi pH yang asam.

Gambar 4 menunjukkan diameter zona jernih pada *E. coli* setelah pemberian

nanopartikel kitosan pada medium NA. Hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi pemberian nano partikel kitosan, maka zona jernihnya semakin besar. Kemampuan antibakteri nanopartikel pada *S. typhimurium* menunjukkan hasil yang berbeda pada *E. coli*.

Berdasarkan analisis LSD dapat diketahui bahwa perlakuan optimum terjadi pada perlakuan 0,4 g/50mL. Hal ini sama seperti uji antibakteri pada *E. coli*. Pada perlakuan 0,4 g/50mL, nanopartikel kitosan tidak mengalami agregasi partikel. Sedangkan pada perlakuan 0,5 g/50mL nanopartikel mengalami agregasi partikel sehingga memiliki aktivitas antibakteri yang lebih rendah.

Menurut Coma *et al.* (2002) dalam Goy *et al.* (2009), aktivitas antimikrobia pada kitosan memiliki 3 mekanisme yang berbeda. Pada mekanisme pertama disebabkan adanya interaksi antara muatan positif pada molekul kitosan dengan muatan negatif pada membran sel mikrobia. Interaksi tersebut bertindak sebagai gaya elektrostatis antara gugus NH_3^+ yang terprotonasi dan residu negatif yang bersaing dengan Ca^{2+} pada sisi elektronegatif permukaan membran sel. Interaksi elektrostatis menyebabkan perubahan sifat permeabilitas membrane, sehingga memicu ketidakseimbangan tekanan osmotik internal yang akibatnya dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme tersebut. Selain itu, dengan adanya interaksi elektrostatis terjadi hidrolisis peptidoglikan pada dinding mikroorganisme, menyebabkan keluarnya elektrolit intraselular seperti ion potassium dan molekul seperti protein dan asam nukleat.

Pada mekanisme kedua, kemampuan kitosan dalam bentuk nanopartikel dapat menetrasi ke dalam sel dinding bakteri, bergabung dengan DNA, dan menghambat sintesis mRNA, dan transkripsi DNA (Sudarshan *et al.*, 1992 dalam Goy *et al.*, 2009).

Pada mekanisme ketiga, pembentukan khelasi dari logam, yang dapat menekan elemen spora dan mengikat nutrien esensial pertumbuhan mikrobia. Kemampuan kitosan dalam mengikat logam disebabkan adanya gugus amina dalam kitosan, sehingga dapat meng*uptake* kation logam dengan khelasi. Hal

ini menyebabkan molekul kitosan pada bakteri mengelilingi logam kompleks dan terjadi blok beberapa aliran nutrisi, sehingga menyebabkan kematian sel mikrobia (Papineau *et al.*, 1991 dalam Goy *et al.*, 2009).

KESIMPULAN

Pada penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Sintesis nanopartikel kitosan dipengaruhi oleh konsentrasi TPP dan konsentrasi kitosan dalam asam asetat.
2. Nanopartikel kitosan dapat menurunkan kandungan Cd dalam medium cair dengan penambahan yang optimum sebesar 0,4 gr/50mL. Partikel tersebut juga menunjukkan penghambatan optimum pada pertumbuhan *Salmonella typhimurium* dan *Escherichia coli*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih yang sedalam-dalamnya penulis sampaikan kepada Dr. Ario Setiadi yang telah memberikan bantuan dana selama proses penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Aranaz I, Marian M, Ruth H, Ines P, Beatriz M, Niuris A, Gemma G, and Angeles H. 2009. Functional Characterization of Chitin and Chitosan. *J. Current Chemical Biology*. vol 3: 203-230.
- Bradl HB. 2005. Heavy Metals in the Environmet. Holland: Elsevier. pp 98-103.
- Calvo P, Remuñan-Lopez C, Vila-Jato JL, Alonso MJ. 1997. Novel Hydrophilic Chitosan-Polyethylene Oxide Nanoparticles As Protein Carriers. *J. Applied Polymer Science*. vol 63: 125-132.
- Cauerhff A, Yanina NM, German AI, Guillermo RC. 2013. Nanotoxicology and Nanomedicine. Chapter 2. Newyork: Springer. pp 63-69.
- Fabregas A, Miñarroa F, Garcia-Montoyaa E, Perez-Lozanoa P, Carrillo C, Sarratea R, Sancheza N, Ticoa BJR, Suñe-Negrea JM. 2013. Impact of Physical Parameters on Particle Size and Reaction Yield When using the Ionic Gelation Method to Obtain Cationic Polymeric Chitosan-

- Tripolyphosphate Nanoparticles. *Int J Pharm.* vol 446(1-2): 199-204.
- Goy RC, Duglas B, Odilio BGA. 2009. A Review of the Antimicrobial Activity of Chitosan. *Polimeros: Ciencia e Tecnologia.* vol 19(3): 241-247.
- Mardiyati E, Sjaikhurrizal E, Damai RS. 2012. Sintesis Nanopartikel Kitosan-Tripolphosphate dengan Metode Gelasi Ionik : Pengaruh Konsentrasi dan Rasio Volume Terhadap Karakteristik Partikel. *Prosiding Seminar Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Bahan.* hal 90-93.
- Mohanraj VJ and Chen Y. 2006. Nanoparticles-A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* vol 5(1): 561-573.
- Sivakami MS, Thandapani G, Jayachandran V, Hee SJ, Se KK, Sudha PN. 2013. Preparation and Characterization of Nano Chitosan for Treatment Wastewaters. *Int J Biol Macromol.* vol 57: 204-211. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.03.005.
- USGS. 2008. *Mineral Commodity Summaries, Kadmium.* Washington: United States Government Printing Office. pp 42-43.