

LAPORAN HASIL PENELITIAN

**PENGARUH PENAMBAHAN AgNO_3 DAN ZnO
SEBAGAI ANTIBAKTERI PADA HIDROGEL
POLIVINIL ALKOHOL-ALGINAT**

**Betty Marita Soebrata
Henny Purwaningsih
Sari Narulita
Anggun Taradipa**



**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2022**

PENGARUH PENAMBAHAN AgNO₃ DAN ZnO SEBAGAI ANTIBAKTERI PADA HIDROGEL POLIVINIL ALKOHOL-ALGINAT

Betty Marita Soebrata, Henny Purwaningsih, Sari Narulita, Anggun Taradipa

Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Institut Pertanian Bogor

ABSTRAK

Penambahan AgNO₃ dan ZnO pada hidrogel berbasis Polyvinyl Alcohol (PVA) - Alginat dapat memberikan sifat antibakteri pada hidrogel tersebut. Penelitian ini bertujuan menyintesis hidrogel antibakteri berbasis PVA-alginat dengan antibakteri AgNO₃ dan ZnO menggunakan alginat komersial dan hasil ekstraksi, menentukan nisbah komposisi, karakterisasi dan potensinya sebagai zat antibakteri. Campuran PVA, alginat, AgNO₃ dan ZnO dapat meningkatkan kemampuan mengembang seiring dengan meningkatnya komposisi dan konsentrasi yang dipakai. Komposisi terbaik PVA-alginat komersial, serta konsentrasi AgNO₃ dan ZnO yang ditambahkan terhadap PVA-alginat komersial, yaitu PVA 10%, alginat komersial 3% dan AgNO₃ 5 mM serta ZnO 0.5%. Karakterisasi alginat hasil ekstraksi meliputi kadar air, rendemen, viskositas, dan gugus fungsi. Efektivitas penghambatan antibakteri terbaik ditunjukkan dengan tambahan AgNO₃ 5 mM dan ZnO 0.5%. Morfologi hidrogel PVA-alginat- AgNO₃ dan PVA-alginat-ZnO dikarakterisasi menggunakan mikroskop elektron payaran (SEM) dan menunjukkan adanya pori-pori dan distribusi AgNO₃ dan ZnO. Hidrogel PVA-alginat dengan antibakteri AgNO₃ dan ZnO berpotensi sebagai penutup luka.

Kata kunci: AgNO₃, alginat, antibakteri, hidrogel, PVA, , ZnO

PENDAHULUAN

Hidrogel merupakan polimer hidrofilik yang saling berikatan silang membentuk jejaring tiga dimensi, sehingga memiliki kemampuan mengembang (*swelling*) dengan menyerap air atau cairan biologis karena strukturnya yang hidrofilik (Kartika *et al.* 2015). Hidrogel memiliki kemampuan menyerap air dalam jumlah banyak dan biokompabilitas yang tinggi, oleh karena itu hidrogel dapat dimanfaatkan dalam bidang medis sebagai matriks untuk penutup luka, proses pelepasan obat, kosmetik, dan dalam bidang pertanian. Hidrogel sebagai matriks untuk penutup luka diharapkan mampu menciptakan dan menjaga lingkungan di sekitar luka tetap lembap, melindungi luka dari efek samping,

mampu menyerap cairan dan eksudat luka, mencegah kekeringan pada luka, sifatnya elastis, biokompatibel dan biodegradabel (Kamoun *et al.* 2014). Hidrogel dapat dibuat dari polimer alam seperti alginat, karaginan, kitosan, gelatin, pati dan selulosa. Selain itu, juga dapat dibuat dari polimer sintetik seperti poli (asam) akrilat, polivinil alkohol, polivinil pirolidon, dan polietilena glikol (Haerunnisa 2008).

Polimer sintetik yang saat ini banyak digunakan sebagai hidrogel pembalut luka adalah polivinil alkohol (PVA). Polimer ini dihasilkan dari hidrolisis polivinil asetat, berupa padatan termoplastik, tidak larut dalam air namun larut dalam air panas pada suhu diatas 80 °C. PVA tidak bersifat toksik, tidak karsinogenik, serta memiliki biokompatibilitas yang tinggi dan sesuai untuk simulasi jaringan alami. Selain itu, PVA mempunyai permeabilitas oksigen yang baik dan baik dalam pembentukan film (Shalumon *et al.* 2011). Namun, sifat mekanik PVA yang rapuh membuatnya perlu dikombinasikan dengan polimer sintetik atau alami lain yang tidak sekadar menaikkan sifat mekanik tersebut, tetapi juga dapat mempercepat penyembuhan luka, misalnya alginat, karaginan, selulosa, dan kitosan (Erizal dan Abidin 2011).

Alginat merupakan bahan alam makromolekul polianionik yang terdiri atas poli-1,4-asam β -D-manuronat (blok M) dan poli-1,4-asam α -L-guluronat (blok G) dengan susunan yang bervariasi (Gambar 2). Alginat dapat diekstraksi dari rumput laut cokelat seperti *Sargassum* sp. Alginat tidak bersifat toksik, biodegradabel, larut dalam air, dan biokompatibel. Alginat telah banyak digunakan sebagai produk alternatif medis karena sebagai bahan regenerasi pembuluh darah, kulit, tulang rawan, dan ikatan sendi. Selain itu, alginat digunakan sebagai penutup luka karena berdaya absorpsi tinggi, bersifat elastis, tidak mengiritasi kulit, tidak mengganggu atau merusak jaringan baru, dan mempercepat proses penyembuhan luka (Mutia *et al.* 2011).

Alginat dapat dimanfaatkan sebagai matriks untuk penutup luka yang sangat baik apabila ditambahkan dengan suatu polimer sintetik, seperti polivinil alkohol (PVA) dengan jumlah yang lebih sedikit dibandingkan polimer sintetiknya sehingga akan meningkatkan kemampuan dalam menyerap air, membran hidrogelnya makin kuat, biokompatibelnya meningkat dan biodegradabel (Erizal dan Abidin 2011). Hidrogel sebagai matriks untuk penutup luka dapat ditambahkan zat antibakteri untuk menghambat adanya pertumbuhan bakteri di sekitar luka. Banyak zat antibakteri yang memiliki daya penghambatan terhadap suatu bakteri dengan sangat baik, salah satunya adalah perak (Ag). Perak telah ditemukan sebagai agen yang sangat baik dalam menghambat infeksi pada luka. Salah satu jenis perak yang memiliki kemampuan tersebut adalah perak nitrat (AgNO_3). Perak nitrat (AgNO_3) merupakan senyawa yang mampu membunuh mikroba secara efektif, seperti bakteri gram positif maupun negatif, dan bakteri yang sangat resisten. Selain itu, material antibakteri lainnya yang banyak dikembangkan adalah oksida logam, seperti ZnO yang memiliki aktivitas antibakteri yang baik karena mampu menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri (Darwis *et al.* 2010).

Hidrogel yang dibuat pada penelitian ini menggunakan polimer sintetik dan polimer alami. Polimer sintetik yang digunakan yaitu polivinil alkohol (PVA) dan polimer alaminya yaitu alginat, serta adanya tambahan antibakteri perak nitrat (AgNO_3). Hidrogel ini dibuat dengan teknik kombinasi antara beku-leleh dan

iradiasi gamma yang diharapkan mampu meningkatkan stabilitas dalam kemampuan menyerap air, biokompatibel, dan biodegradabel. Bakteri yang diuji pada hidrogel antibakteri PVA-alginat-AgNO₃ adalah *Escherichia coli* (bakteri Gram negatif) dan *Staphylococcus aureus* (bakteri Gram positif), yang kemudian dilihat pengaruh penghambatannya. Penelitian ini bertujuan menyintesis hidrogel antibakteri berbasis PVA-alginat dengan antibakteri AgNO₃ dan ZnO menggunakan alginat komersial dan hasil ekstraksi, menentukan nisbah komposisi, karakterisasi dan potensinya sebagai zat antibakteri.

METODE

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah termometer, *plastic wrap*, neraca analitik, peralatan gelas, *laminar flow cabinet*, plastik polipropilena (PP), *sealing machine*, cetakan kayu, mortar, pengaduk magnetik, cawan petri, oven, *hotplate*, saringan, desikator, alat Iradiator Panorama Serbaguna (IPRASENA) Irka, spektrofotometer FTIR Prestige-21, dan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) (EVO MA10 ZEIZ). Bahan-bahan yang digunakan adalah rumput laut cokelat *Sargassum* sp. dari Pulau Pari Kepulauan Seribu, alginat komersial buatan Kimitsu-Jepang, polivinil alkohol (PVA) buatan Merck dengan bobot molekul rata-rata 72000, induk bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (IPB Culture Centre Lab Mikrobiologi), HCl 0.5%, NaOH 0.1%, Na₂CO₃ 1.5%, NaOCl 5%. HCl 5%, Na₂CO₃ 7%, Zn(CH₃COO)₂, isopropil alkohol 95%, AgNO₃ (0 mM, 1 mM, 2.5 mM, dan 5 mM), akuades, pelat KBr, *nutrient agar* (NA), *nutrient broth* (NB), dan tetrasiklin 1000 ppm.

Prosedur

Pembuatan Hidrogel PVA-Alginat-AgNO₃ dan Hidrogel PVA-Alginat-ZnO

Prosedur mengacu pada Erizal dan Abidin 2011. Hidrogel PVA-alginat-AgNO₃ dan ZnO dibuat menggunakan kombinasi metode beku-leleh dan iradiasi gamma. PVA dengan komposisi 10% dilarutkan dalam 100 ml akuades panas, kemudian ditambahkan alginat sambil diaduk sampai homogen dalam kondisi panas. Campuran PVA-alginat dikemas dalam plastik polipropilena (PP) dengan ukuran 20 cm × 10 cm dan ditutup hingga kedap udara menggunakan *sealing machine*, lalu dimasukkan ke dalam cetakan kayu, kemudian didinginkan dalam freezer selama ±15 menit, hidrogel yang telah dingin dikeluarkan dari cetakan dan dibekukan kembali dalam freezer selama 18 jam. Hidrogel yang telah beku kemudian dilelehkan selama ±6 jam. Penyinaran iradiasi gamma pada hidrogel dilakukan dengan dosis 15 kGy selama 6 jam menggunakan Iradiator Panorama Serbaguna (IPRASENA) Irka.

Komposisi terbaik PVA dan alginat ditentukan melalui pembuatan hidrogel PVA-alginat komersial dengan konsentrasi alginat komersial (0%, 2%, 2.5%, dan 3%) kemudian ditentukan kemampuan mengembang dan fraksi gel. Komposisi terbaik yang diperoleh selanjutnya digunakan dalam pembuatan hidrogel PVA-alginat komersial-AgNO₃ dengan konsentrasi AgNO₃ (0, 1, 2.5, dan 5) mM, lalu diuji kemampuan mengembang, fraksi gel, dan aktivitas antibakteri. Cara yang

sama dilakukan dengan mengganti AgNO₃ oleh ZnO. Komposisi PVA, alginat komersial, AgNO₃ dan ZnO yang digunakan selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Komposisi PVA, alginat komersial, AgNO₃, ZnO

Formulasi	Jenis bahan			
	PVA (%)	Alginat (%)	AgNO ₃ (mM)	ZnO (%)
A	10	0	-	-
B	10	1	-	-
C	10	2.5	-	-
D	10	3	-	-
D1	10	3	1	-
D2	10	3	2.5	-
D3	10	3	5	-
D4	10	3	-	0.1
D5	10	3	-	0.3
D6	10	3	-	0.5

Penentuan Kemampuan Mengembang

Prosedur mengacu pada Erizal dan Abidin 2011. Sampel hidrogel dengan ukuran 2 cm × 2 cm × 0.5 cm dikeringkan dalam oven pada suhu 60 °C hingga bobotnya konstan, lalu hidrogel kering ditimbang (w_k). Hidrogel kemudian direndam dalam 100 ml akuades dan ditimbang bobotnya (w_b) setiap 1 jam selama 8 jam, kemudian selama 24 jam. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali ulangan.

Penentuan Fraksi Gel

Prosedur mengacu pada Erizal dan Abidin 2011. Sampel hidrogel dengan ukuran 2 cm × 2 cm × 0.5 cm dikeringkan dalam oven dengan suhu 60 °C hingga bobot konstan dan ditimbang (w_o). Hidrogel yang kering kemudian dimasukkan ke dalam vial kecil dan diisi dengan akuades sampai leher botol, botol vial lalu ditutup dan dimasukkan ke dalam oven suhu 60 °C selama 24 jam. Hidrogel dikeluarkan dari botolnya dan dikeringkan dalam oven pada suhu 60 °C hingga bobot konstan dan ditimbang kembali (w_s).

Ekstraksi Alginat

Prosedur mengacu pada Maharani dan Widyayanti 2009. Rumput laut cokelat *Sargassum* sp. kering dipotong-potong dengan panjang sekitar 1 cm lalu ditimbang. Rumput laut kemudian direndam dalam larutan HCl 0.5% (1:15 b/v) selama 1 jam lalu dibilas dengan akuades sebanyak 2 kali. Perendaman dilanjutkan dalam larutan NaOH 0.1 % (1:15 b/v) selama 1 jam, kemudian dibilas dengan akuades sebanyak 2 kali. Rumput laut hasil perendaman diekstraksi dengan larutan Na₂CO₃ 1.5% (1:15 b/v) selama 90 menit pada suhu 50±2 °C. Ekstraksi ini bertujuan untuk memisahkan selulosa dari alginat dalam suasana basa. Hasil ekstraksi selanjutnya disaring. Filtrat hasil penyaringan dipucatkan/diputihkan dengan ditambahkan NaOCl 5% (1:1 b/v) dan direndam selama 1 jam. Proses pemucatan bertujuan untuk menghilangkan/melarutkan zat warna dalam larutan alginat kasar yang berupa senyawa fenolik yang terdapat

dalam ikatan polimer alginat sehingga diperoleh larutan alginat yang lebih jernih. Filtrat ditambahkan HCl 5% sampai terbentuk endapan asam alginat, endapan yang diperoleh dipisahkan dan dicuci. Asam alginat yang diperoleh ditambahkan dengan larutan alkali Na_2CO_3 7%. Penambahan larutan alkali Na_2CO_3 7% bertujuan untuk mendapatkan natrium alginat sehingga akan diperoleh alginat dalam bentuk stabil. Filtrat yang diperoleh dipisahkan dengan cara dituang perlahan-lahan ke dalam gelas piala yang berisi larutan isopropil alkohol 95% sambil diaduk dan dibiarkan selama 30 menit. Serat-serat alginat yang dihasilkan dikeringkan kemudian serat kering digiling hingga diperoleh serbuk padatan natrium alginat.

Penentuan Rendemen Alginat Hasil Ekstraksi

Bobot alginat hasil ekstraksi dibandingkan terhadap bobot rumput laut kering.

Penentuan Kadar Air

Prosedur mengacu pada AOAC 1990. Cawan petri kosong dikeringkan dalam oven selama 1 jam pada suhu $105\text{ }^\circ\text{C}$, kemudian didinginkan dalam desikator lalu ditimbang bobotnya. Alginat hasil ekstraksi ditimbang sebanyak 1 gram dan diletakkan dalam cawan tersebut, lalu ditimbang bobotnya. Cawan yang berisi alginat dikeringkan dalam oven selama 3 jam pada suhu $105\text{ }^\circ\text{C}$, kemudian dimasukkan ke dalam desikator selama 30 menit lalu ditimbang bobotnya. Penimbangan dilakukan sebanyak 3 kali sampai diperoleh bobot yang konstan.

Viskositas Alginat

Alginat dengan bobot 1 gram dilarutkan dalam 100 ml akuades lalu diaduk sampai larut. Viskositas diukur menggunakan alat *viscometer Brookfield*. Nilai viskositas dibaca setelah 1 menit putaran penuh dengan kecepatan 100 rpm. spindle nomor 03 dan mempunyai satuan cP (centipoise).

Iradiasi Hidrogel PVA-Alginat- AgNO_3 dan Hidrogel PVA-Alginat-ZnO

Hidrogel dibuat dengan menambahkan komposisi PVA-alginat- AgNO_3 hasil yang terbaik dari pembuatan hidrogel sebelumnya. Campuran diaduk sampai homogen dalam kondisi panas lalu dikemas dalam plastik polipropilen (PP) dengan ukuran $20\text{ cm} \times 10\text{ cm}$ dan ditutup hingga kedap udara menggunakan *sealing machine*, lalu dimasukkan ke dalam cetakan kayu, kemudian didinginkan dalam freezer selama ± 15 menit, hidrogel yang telah dingin dikeluarkan dari cetakan dan dibekukan kembali dalam *freezer* selama 18 jam. Hidrogel yang telah beku kemudian dilelehkan selama ± 6 jam. Penyinaran iradiasi gamma pada hidrogel dilakukan dengan dosis 15 kGy selama 6 jam. Hidrogel PVA-alginat ekstraksi- AgNO_3 juga dilakukan penentuan kemampuan mengembang, fraksi gel, dan uji aktivitas antibakterinya. Cara yang sama dilakukan dengan menggunakan ZnO.

Penentuan Gugus Fungsi menggunakan Spektrofotometer FTIR

Sampel yang dianalisis menggunakan spektroskopi FTIR adalah alginat hasil ekstraksi, hidrogel PVA-alginat komersial, dan hidrogel PVA-alginat komersial- AgNO_3 . Pelet disiapkan dengan mencampurkan sampel sebanyak 2 mg dan KBr sebanyak 45 mg menggunakan tekanan 400 kg/cm^2 selama 10 menit.

Sampel dianalisis pada lebar pita 400-4000 cm^{-1} . Cara yang sama dilakukan dengan menggunakan ZnO.

Uji Aktivitas Antibakteri Hidrogel

Prosedur mengacu pada Cahyaningsih *et al.* 2015 dan Singh *et al.* 2015. Uji aktivitas antibakteri menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) dan *Escherichia coli* (*E. coli*). Bakteri tersebut sebelumnya telah diremajakan dalam *nutrient agar* (NA) lalu diinokulasi dalam media *nutrient broth* (NB) sebanyak 10 ml, selanjutnya diinkubasi untuk *S. aureus* pada suhu 37 °C selama 24 jam dan untuk *E. coli* selama 18 jam. Larutan NB sebanyak 1 ml yang berisi biakan bakteri dimasukkan dalam cawan petri yang sudah disterilkan, lalu ditambahkan NA sambil digoyang-goyangkan supaya bakteri tersuspensi merata. Media NA dibiarkan memadat, lalu pada media tersebut diletakkan hidrogel PVA-alginat- AgNO_3 dengan dipilih konsentrasi paling baik dari AgNO_3 1 mM, 2.5 mM, dan 5 mM yang berdiameter 10 mm pada permukaan media. Selain itu, juga disiapkan kontrol negatif yang berupa PVA-alginat, serta kontrol positif berupa tetrasiklin 1000 ppm untuk bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli*. Cawan petri tersebut selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C dan untuk bakteri *E. coli* selama 18 jam dan 24 jam untuk bakteri *S. aureus*. Pengukuran aktivitas inhibisi antibakteri diukur berdasarkan diameter zona bening yang terbentuk di sekitar cakram sampel. Cara yang sama dilakukan dengan menggunakan ZnO.

Analisis Morfologi dengan Mikroskop Elektron Payaran (SEM)

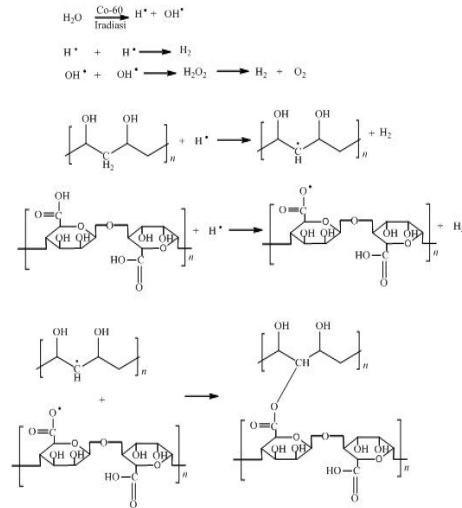
PVA-alginat-ZnO dan AgNO_3 diuji morfologinya menggunakan mikroskop elektron payaran (SEM) dengan perbesaran 1000 \times , 2000 \times , 5000 \times , 10000 \times , dan 20000 \times .

PEMBAHASAN

Hidrogel PVA-Alginat

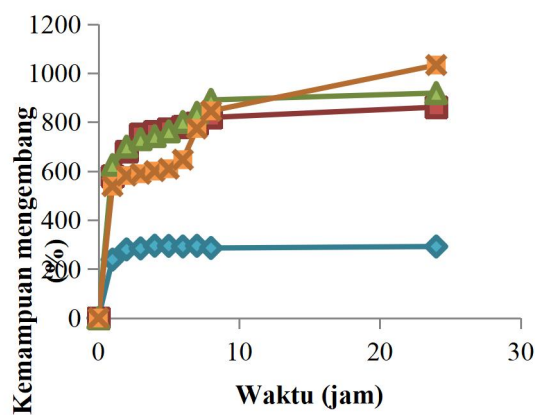
Pembuatan hidrogel PVA-alginat dilakukan dengan mencampurkan PVA 10% dengan alginat 0% (A), 2% (B), 2.5% (C), dan 3% (D) kemudian dilakukan proses beku-leleh dan dilanjutkan proses iradiasi. Proses beku-leleh relatif aman dan tidak membutuhkan katalisator. Namun, menghasilkan sifat fisika yang kurang maksimal, seperti fraksi gel dan sifat mekanik dari hidrogel karena hanya terbentuk ikatan silang secara fisik dalam struktur makromolekulnya (Stasko *et al.* 2009). Proses beku-leleh yang dilakukan sebelum iradiasi gamma berfungsi membentuk struktur makrokristalin pada hidrogel dan mencegah terjadinya degradasi alginat setelah diiradiasi. Proses iradiasi gamma lebih mudah membentuk ikatan silang secara kimia dari polimernya. Akan tetapi, penggunaan iradiasi gamma pada sintesis hidrogel menggunakan alginat akan mudah mengalami degradasi sehingga dilakukan kombinasi antara proses beku-leleh dengan iradiasi. Kombinasi proses beku-leleh dan iradiasi gamma ini dapat meningkatkan kerapatan ikatan silang hidrogel dan dapat menaikkan sifat

mekanik dari hidrogel (Erizal *et al.* 2009). Pada proses beku-leleh, terjadi ikatan hidrogen antara gugus fungsi OH pada PVA dan alginat sedangkan pada proses iradiasi terjadi ikatan kovalen. Mekanisme ikatan silang yang mungkin terbentuk selama proses iradiasi gamma dapat dilihat pada Gambar 1.



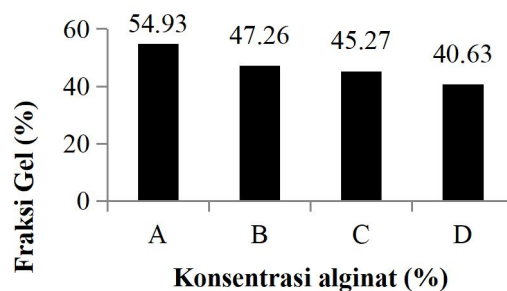
Gambar 1 Dugaan interaksi kovalen antara PVA dan alginat

Hidrogel sebagai matriks penutup luka perlu diuji kemampuan mengembang dan fraksi gel nya. Kemampuan mengembang merupakan salah satu sifat penting bagi hidrogel sebagai matriks yang dapat menyerap cairan luka. Kemampuan mengembang merupakan kemampuan suatu hidrogel untuk dapat menyerap air atau cairan biologis lainnya yang tidak larut serta tetap mempertahankan struktur tiga dimensinya (Wijayanti *et al.* 2005). Fraksi gel merupakan salah satu parameter yang umum digunakan dalam sintesis hidrogel dan mencerminkan fraksi jumlah bahan awal baik monomer/polimer yang diubah menjadi hidrogel.



Gambar 2 Kemampuan mengembang hidrogel PVA-alginat komersial terhadap waktu

Parameter tersebut juga menunjukkan nilai efisiensi dari proses sintesis hidrogel yang bergantung pada kepekaan bahan terhadap iradiasi yang dipaparkan. Semakin peka bahan terhadap iradiasi, semakin tinggi efisiensi dari proses. Fraksi gel juga mengindikasikan ikatan silang yang terbentuk. Pengaruh konsentrasi alginat terhadap kemampuan mengembang dapat dilihat pada Gambar 2. Kemampuan mengembang dilakukan pada waktu 0 –8 jam, dan dilanjutkan sampai 24 jam. Hidrogel mengembang maksimum pada perendaman selama 8 jam, kemudian perendaman 24 jam menghasilkan kemampuan mengembang yang tidak signifikan. Meningkatnya komposisi alginat, menghasilkan nilai kemampuan mengembang yang besar yang disebabkan adanya perubahan ukuran pori rata-rata, distribusi ukuran pori hidrogel serta interkoneksi pori yang disebabkan interaksi inter dan intra antara alginat dan PVA selama proses iradiasi. Selain itu, komposisi alginat yang semakin meningkat berpengaruh pada kenaikan kemampuan mengembang disebabkan meningkatnya gugus ion karbonat (-COO-) yang mengontrol kemampuan mengembang dalam hidrogel pada kenaikan kandungan alginat (Erizal *et al.* 2009). Nilai kemampuan mengembang paling besar didapatkan pada komposisi alginat 3% dengan kemampuan mengembang sebesar 1030.30% dan fraksi gel sebesar 40.63%.

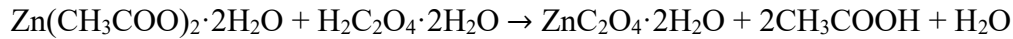


Gambar 3 Fraksi gel hidrogel PVA- alginat komersial terhadap konsentrasi alginat

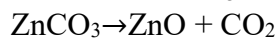
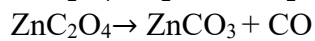
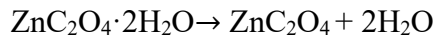
Berbanding terbalik dengan kemampuan mengembang, fraksi gel yang dihasilkan semakin kecil dengan meningkatnya komposisi alginat yang ditambahkan (Gambar 3). Hal ini disebabkan alginat mengalami degradasi selama proses iradiasi yang menyebabkan bobot molekulnya menurun. Alginat yang terdegradasi menghambat pembentukan ikatan silang dengan PVA, sehingga ikatan silang yang terbentuk semakin sedikit. Hasil ini sesuai dengan Kamoun *et al.* (2013) yang melakukan sintesis hidrogel PVA dan alginat dengan variasi komposisi, yang menghasilkan fraksi gel yang semakin kecil dengan meningkatnya komposisi alginat.

ZnO

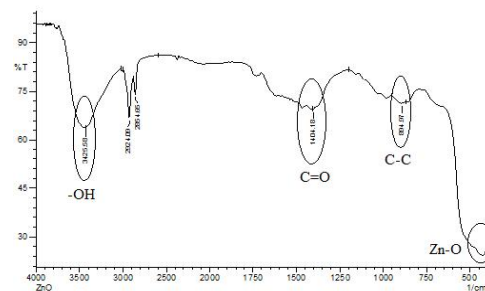
Sintesis ZnO dilakukan dengan mencampurkan seng asetat dan asam oksalat dengan metode kopresipitasi. Kopresipitasi merupakan salah satu metode sintesis senyawa anorganik yang didasarkan pada pengendapan lebih dari satu substansi. Penambahan asam oksalat pada larutan seng asetat mengakibatkan larutan bening menjadi putih keruh. Hal ini menunjukkan telah terbentuknya endapan seng oksalat. Menurut Kanade *et al.* (2006) reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:



Endapan seng oksalat dipisahkan dari larutan putih keruh menggunakan sentrifugasi. Endapan putih kemudian dikeringkan di dalam oven untuk menghilangkan air dan sisa asam oksalat yang tidak bereaksi sehingga menghasilkan padatan putih. Padatan putih kemudian dikalsinasi di dalam tanur untuk menghilangkan ion oksalat dan mendekomposisi seng oksalat menjadi seng oksida. Reaksi dekomposisi yang terjadi menurut Kanade *et al.* (2006) adalah sebagai berikut:

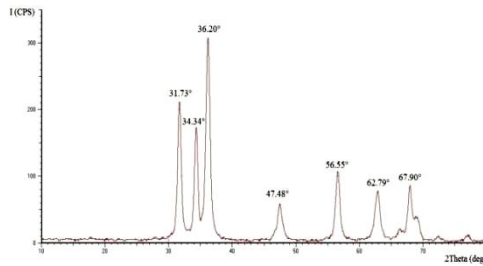


Spektrum FTIR yang diperoleh memiliki serapan yang tinggi pada bilangan gelombang 430.13 cm^{-1} yang menunjukkan gugus ZnO yang terbentuk (Gambar 4). Rentang panjang gelombang yang dihasilkan oleh Raharjo dan Prasetyoko (2009) tidak jauh berbeda, yaitu sebesar $443\text{-}436 \text{ cm}^{-1}$ sehingga dapat disimpulkan bahwa ZnO telah terbentuk. Gugus lain terdeteksi pada bilangan gelombang 3425.58 cm^{-1} yang menunjukkan vibrasi OH, bilangan gelombang $2924,09 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya CH, CH_3 ditunjukkan pada bilangan gelombang 2854.65 cm^{-1} , C=O ditunjukkan pada bilangan gelombang 1404.18 cm^{-1} , dan vibrasi C-C berada pada bilangan gelombang 894.97 cm^{-1} . Gugus lain yang terdeteksi tersebut mengartikan bahwa ZnO yang terbentuk tidak murni dan masih terdapat pengotor.



Gambar 4 Spektrum inframerah dari ZnO

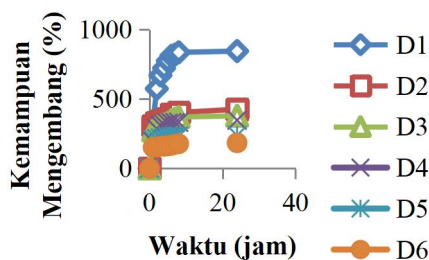
Padatan ZnO yang telah disintesis, dianalisis menggunakan difraksi sinar-X (XRD) untuk mengetahui struktur kristal dan kristalinitas dari ZnO (Gambar 5). Analisis ZnO dimonitor pada sudut 2θ . Pola difraksi sinar-X dapat dilihat pada Gambar 8. Puncak ZnO sintetik dibandingkan dengan puncak standar dari data JCPDS nomor 05-0664. Puncak standar tersebut berada 2θ adalah 31.75° , 34.44° , 36.25° , 47.54° , 56.55° , 62.68° , dan 67.91° . Puncak ZnO hasil sintesis pada difraktogram pada 2θ adalah 31.73° , 34.34° , 36.20° , 47.48° , 56.55° , 62.79° , dan 67.90° . Puncak-puncak ZnO hasil sintesis menunjukkan kesesuaian dengan data tersebut. Kristalinitas ZnO yang dihasilkan adalah 80.10%.



Gambar 5 Pola difraksi sinar-X ZnO

Hidrogel PVA-Alginat dengan Antibakteri ZnO-AgNO₃

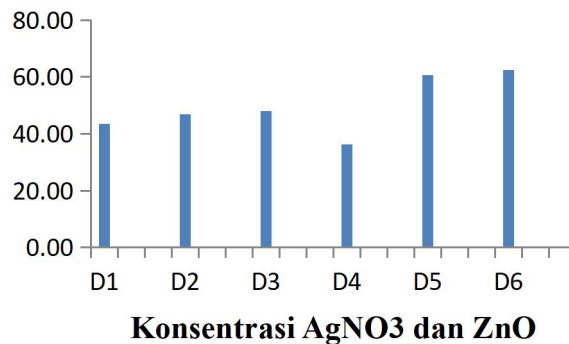
Pembuatan hidrogel PVA-alginat-dengan antibakteri AgNO₃ dan ZnO dari komposisi terbaik PVA-alginat komersial 10:3 (%) (D) selanjutnya dibuat dengan penambahan AgNO₃ dengan konsentrasi 1 mM (D1), 2.5 mM (D2), dan 5 mM (D3), serta ZnO dengan konsentrasi 1000 ppm, 3000 ppm, dan 5000 ppm. Pengaruh penambahan AgNO₃ terhadap kemampuan mengembang dapat dilihat pada Gambar 6. Kemampuan mengembang setelah penambahan AgNO₃ dan ZnO berkebalikan dengan kemampuan mengembang tanpa penambahan AgNO₃ dan ZnO, yaitu semakin tinggi konsentrasi AgNO₃ dan ZnO menyebabkan kemampuan mengembang menurun. Hal ini dimungkinkan adanya ion Ag⁺ dalam jumlah banyak yang berikatan dengan gugus hidroksil (OH⁻) dari PVA yang menyebabkan penyerapan air menjadi menurun karena semakin sedikit gugus hidroksil yang dapat mengabsorpsi air. Adanya Zn yang berikatan dalam matriks polimer dengan konsentrasi yang tinggi akan menghalangi laju penyerapan air dalam matriks polimer tersebut. Hasil ini sesuai dengan Mohandas *et al.* (2015) yang melakukan sintesis hidrogel komposit alginat-ZnO yang menghasilkan nilai kemampuan mengembang yang semakin kecil.



Gambar 6 Kemampuan mengembang hidrogel PVA-alginat komersial-dengan AgNO₃ dan ZnO terhadap waktu

Pengaruh penambahan AgNO₃ dan ZnO terhadap fraksi gel dapat dilihat pada Gambar 7. Fraksi gel dengan penambahan AgNO₃ yang dihasilkan berkebalikan dengan kemampuan mengembang. Semakin tinggi konsentrasi AgNO₃ yang digunakan maka semakin tinggi fraksi gel yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan tautan silang yang terbentuk antara ion Ag⁺ dan gugus hidroksil yang semakin banyak menyebabkan struktur hidrogel menjadi lebih rapat dengan adanya kenaikan konsentrasi AgNO₃. Selain itu, semakin tinggi konsentrasi ZnO menyebabkan ikatan silang yang terbentuk semakin tinggi sehingga struktur hidrogel menjadi lebih padat dan rapat dengan adanya kenaikan konsentrasi ZnO.

Hasil ini sesuai dengan Mohandas *et al.* (2015) yang melakukan sintesis hidrogel komposit alginat-ZnO yang menghasilkan fraksi gel yang semakin besar.



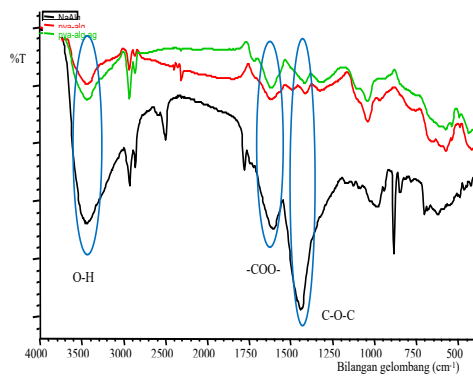
Gambar 7 Fraksi gel PVA-alginat komersial terhadap konsentrasi AgNO₃ dan ZnO

Hidrogel PVA-alginat komersial dan hidrogel PVA-alginat komersial-AgNO₃ dianalisis gugus fungsinya menggunakan FTIR. Penentuan gugus fungsi dengan FTIR ini bertujuan untuk mengetahui keberhasilan dari sintesis hidrogel PVA-alginat komersial dan hidrogel PVA-alginat komersial-AgNO₃ serta sebagai pengendali mutu dari bahan dasar yang digunakan pada proses sintesis. Spektrum FTIR alginat menghasilkan puncak-puncak serapan pada bilangan gelombang 3500 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus hidroksil (O-H), 2992 cm⁻¹ menunjukkan adanya C-H, dan serapan pada bilangan gelombang 1600 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus karboksil (-COO-). Gugus fungsi alginat ini memiliki kemiripan dengan gugus fungsi alginat standarnya (Gambar 8), yang terdiri atas serapan pada bilangan gelombang 3421.05 cm⁻¹ (O-H), 2942.16 cm⁻¹ (C-H), 1611.57 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus karboksil (-COO-).

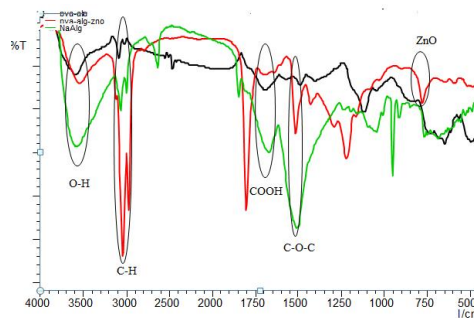
Alginat yang disintesis memiliki kemiripan gugus fungsi dengan alginat standarnya. Spektrum PVA-alginat terdiri atas pita-pita puncak pada daerah panjang gelombang 3433.29 cm⁻¹ (OH), dan 1622.13 (COOH). Gugus karbonil (COOH) PVA-alginat ditunjukkan pada bilangan gelombang 1635 cm⁻¹ dan gugus hidroksil (OH) pada bilangan gelombang 3444 cm⁻¹ (Shalumon *et al.* 2011). Serapan yang dihasilkan pada PVA-alginat setelah dilakukan beku-leleh menunjukkan adanya sedikit pegeseran gugus fungsi (OH). Hal ini dapat disebabkan adanya ikatan silang antara PVA dengan alginat melalui ikatan kovalen (Erizal dan Abidin 2011). Paduan PVA-alginat setelah diiradiasi membentuk ester pada bilangan gelombang 1600 cm⁻¹. Serapan ZnO berada pada bilangan gelombang 613 cm⁻¹ (Perwitasari *et al.* 2012), sedangkan serapan untuk ZnO pada bilangan gelombang 760 cm⁻¹

Tabel 2 Spektrum FTIR hidrogel PVA-alginat AgNO₃

Bilangan gelombang (cm ⁻¹)			
Referensi rentang bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Hidrogel PVA-alginat komersial	Hidrogel PVA-alginat komersial-AgNO ₃	Interpretasi gugus fungsi
3500-3000	3433.29	3425.58	Gugus hidroksil (O-H)
1900-1650	1622.13	1616.35	Gugus karbonil (C=O)
1650-1400	1408.04	1415.75	Ikatan C-O-C



Gambar 8 Spektrum FTIR pada sampel alginat komersial (■) hidrogel PVA-alginat komersial (10:3%) (D) (■), dan hidrogel PVA-alginat komersial-AgNO₃ (D3) (10%:3%:5 mM) (■)



Gambar 9 Spektrum FTIR pada sampel alginat komersial () hidrogel PVA-alginat komersial (10:3%) (D) (), dan hidrogel PVA-alginat komersial-ZnO (D3) (10%:3%:0.5%) ()

Alginat Hasil Ekstraksi

Alginat diperoleh dari hasil ekstraksi rumput laut cokelat *Sargassum* sp. melalui tahapan perendaman, ekstraksi, pemucatan, dan pemurnian. Perendaman dengan asam bertujuan mengurangi jumlah garam-garam mineral yang menempel pada alga serta dapat menghidrolisis dinding sel alga, sehingga alginat dapat lebih mudah diekstraksi (Mushollaeni dan Rusdiana 2011). Ekstraksi alginat dilakukan menggunakan larutan basa, yaitu larutan natrium karbonat (Na_2CO_3). Ekstraksi alginat dengan Na_2CO_3 dapat membantu proses pemuaihan (pembengkakan) jaringan sel alga yang mempermudah keluarnya alginat dari dalam jaringan alga (Mushollaeni dan Rusdiana 2011). Proses pemucatan bertujuan melarutkan zat warna yang terkandung dalam larutan alginat kasar, yaitu senyawa fenolik yang terdapat dalam ikatan polimer alginat.

Ekstrak kental alginat dengan penambahan HCl akan membentuk asam alginat. Asam alginat ini tidak larut dalam air sehingga harus diubah kembali menjadi garam natrium alginat yang larut dalam air. Konversi ini sekali lagi menggunakan larutan Na_2CO_3 .

Tabel 3 Parameter alginat hasil ekstraksi

Parameter	Alginat komersial	Alginat hasil ekstraksi
Kadar air (%)	2.67	14.01
Viskositas (cP)	305	12

Alginat hasil ekstraksi ditentukan kadar air, rendemen, dan viskositasnya (Tabel 3). Kadar air merupakan banyaknya air yang terkandung dalam bahan, dan memengaruhi mutu bahan. Hal ini disebabkan kadar air memengaruhi masa awet selama penyimpanan (Maharani dan Widayanti 2009). Kadar air alginat dikoreksi terhadap kadar air rumput laut *Sargassum* sp.. Kadar air alginat hasil ekstraksi lebih besar dibandingkan dengan kadar air alginat komersial, tetapi nilainya telah memenuhi syarat yang ditetapkan oleh FCC (1993), yaitu kurang dari 15%.

Perbedaan kadar air dipengaruhi oleh beberapa faktor di antaranya jenis rumput laut yang digunakan, habitat dari rumput laut, bagian tanaman yang digunakan, konsentrasi Na_2CO_3 yang digunakan, dan lama ekstraksi. *Sargassum* sp. memiliki kadar air lebih kecil dibandingkan jenis rumput laut yang lain. Jenis yang mempunyai habitat terikat pada cekungan yang selalu tergenang air laut mempunyai kadar air lebih tinggi daripada yang berada pada daerah pasang surut (Mushollaeni dan Rusdiana 2011). Tanaman yang utuh digunakan untuk ekstraksi alginat dalam penelitian ini.

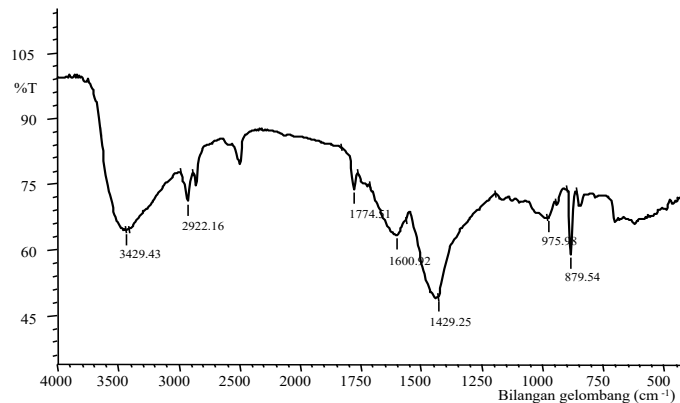
Menurut Zailanie *et al.* (2001), bagian tanaman yang diekstraksi juga berpengaruh pada kadar air alginat. Kadar air tertinggi terdapat pada bagian pangkal (16.77%), terendah pada bagian daun (14.44%), sedangkan kadar air sebesar 16.14% pada bagian yang utuh. Hal ini disebabkan pada bagian pangkal sudah terbentuk asam glukuronat dan asam manuronat yang bersifat hidrofilik. Bagian pangkal merupakan bagian yang paling tua serta tebal. Ketebalan ini menunjukkan umur yang lebih lama dan banyaknya kandungan alginat. Semakin besar konsentrasi Na_2CO_3 yang digunakan untuk ekstraksi, kadar air yang dihasilkan akan semakin tinggi. Putrision *et al.* (2013) meragamkan konsentrasi Na_2CO_3 sebesar 2–8% dan menghasilkan kadar air tertinggi pada konsentrasi 8%, yaitu sebesar 15.67%. Pada ekstraksi alginat dalam penelitian, digunakan konsentrasi Na_2CO_3 7%. Lama ekstraksi juga berpengaruh terhadap kadar air yang dihasilkan. Semakin lama ekstraksi, kadar air cenderung akan semakin tinggi karena air akan diikat oleh gugus hidrofilik pada alginat. Perendaman yang lama akan melunakkan dinding sel rumput laut. Pelunakan dinding sel ini menyebabkan makin banyak alginat yang keluar dari jaringan rumput laut sewaktu ekstraksi (Zailanie *et al.* 2001)

Rendemen alginat yang dihasilkan dari proses ekstraksi sebesar 33.64%. Metode ekstraksi alginat mengacu pada Maharani dan Widyayanti (2009) sehingga menghasilkan produk dengan rendemen yang tinggi, yaitu sebesar 36%. Rendemen yang dihasilkan dipengaruhi oleh konsentrasi Na_2CO_3 dan lama waktu dekantasi. Semakin tinggi konsentrasi Na_2CO_3 yang digunakan, rendemen alginat yang dihasilkan juga semakin banyak disebabkan oleh semakin banyaknya asam alginat yang dikonversi menjadi natrium alginat. Lama waktu dekantasi juga berpengaruh pada rendemen yang dihasilkan. Semakin lama waktu dekantasi, rendemen yang dihasilkan semakin menurun. Hal ini disebabkan sebagian selulosa dan bahan pengotor lain yang tidak larut dalam air mengendap selama proses dekantasi. (Draget 2000).

Viskositas alginat hasil ekstraksi lebih kecil daripada alginat komersial. Perbedaan viskositas ini dipengaruhi oleh beberapa faktor di antaranya jenis rumput laut yang digunakan, habitat dari rumput laut, bagian tanaman yang digunakan, suhu, konsentrasi Na_2CO_3 yang digunakan, metode ekstraksi, dan lama dekantasi. Rumput laut *Sargassum* sp. memiliki viskositas yang lebih tinggi dibandingkan jenis rumput laut yang lain, dan jenis yang habitat tumbuhnya di daerah terkena ombak langsung mempunyai kandungan poliglukuronat yang lebih banyak sehingga viskositas yang dihasilkan semakin tinggi (Ertesvag *et al.* 2009). Bagian tanaman yang digunakan untuk ekstraksi alginat adalah bagian yang utuh. Menurut Zailanie *et al.* (2001) bagian tanaman juga berpengaruh pada viskositas yang dihasilkan. Viskositas tertinggi terdapat pada bagian pangkal sebesar 15.33 cP, terendah pada bagian ujung sebesar 8.93 cP, sedangkan viskositas sebesar 11.40 cP pada bagian yang utuh. Hal ini disebabkan pada bagian pangkal terdapat polisakarida yang non elektrolit, sehingga menyebabkan viskositas meningkat, sedangkan pada bagian ujung merupakan jaringan muda yang mengandung banyak gula, dan jika diekstrak dengan akan larut dan menghasilkan viskositas yang lebih tinggi daripada pangkal. Semakin tinggi suhu ekstraksi juga akan mendegradasi alginat sehingga viskositas akan semakin menurun. Semakin besar konsentrasi Na_2CO_3 yang digunakan untuk ekstraksi, viskositas yang dihasilkan akan semakin turun. Hal ini disebabkan semakin tinggi konsentrasi Na_2CO_3 , rantai

panjang polimer akan terdegradasi menjadi rantai pendek sehingga viskositasnya akan turun. Lama dekantasi juga berpengaruh terhadap viskositas yang dihasilkan. Semakin lama dekantasi, viskositas akan semakin tinggi karena bahan tidak larut air menurun sehingga alginat yang didapat lebih murni dan viskositas meningkat (Subaryono 2010).

Spektrum alginat ditunjukkan dengan vibrasi hidroksil, karboksil, karbonil, dan ikatan antar karbon –COOH dan C-O-C. Spektrum natrium alginat standar menunjukkan serapan pada daerah 3457 cm^{-1} untuk hidroksil dan serapan yang tampak pada daerah 1617 cm^{-1} menunjukkan karbonil, sedangkan 1418 cm^{-1} menunjukkan ikatan C-O-H serta terlihat adanya ikatan C-O-C dan –COOH pada daerah sekitar 1030 cm^{-1} (Mushollaeni dan Rusdiana 2011). Spektrum natrium alginat yang dihasilkan dari ekstraksi juga menunjukkan hal yang serupa dengan alginat standar yaitu adanya hidroksil pada daerah 3429.43 cm^{-1} , karbonil pada daerah 1600.92 cm^{-1} , ikatan C-O-H pada daerah 1429.25 cm^{-1} , dan ikatan C-O-C pada daerah 975 cm^{-1} (Tabel 3), sehingga berdasarkan hasil tersebut, didapatkan hasil bahwa alginat standar dan alginat hasil ekstraksi mempunyai gugus fungsi yang sama.



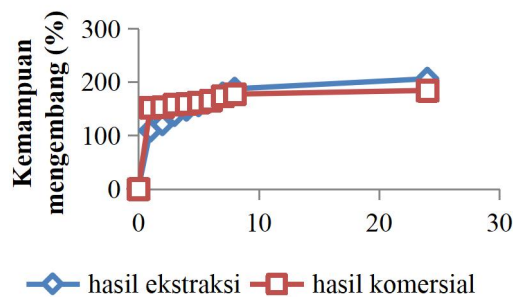
Gambar 10 Spektrum FTIR alginat hasil ekstraksi

Tabel 4 Perbandingan spektrum FTIR alginat standar dengan alginat hasil ekstraksi

Bilangan gelombang (cm^{-1})			
Referensi rentang bilangan gelombang (cm^{-1})	Alginat standar (Fertah <i>et al.</i> 2017)	Alginat hasil ekstraksi	Interpretasi gugus fungsi
3500-3000	3421.05	3429.43	Vibrasi ulur O-H
3000-2900	2942.16	2992.16	Vibrasi ulur C-H
1900-1650	1611.57	1600.92	Vibrasi ulur asimetris – COO-
1650-1400	1416.00	1429.98	Vibrasi ulur simetris – COO-
1000-675	948.20	975.98	Vibrasi ulur C-O pada asam guluronat
1000-675	818.76	879.54	Vibrasi C-O pada asam

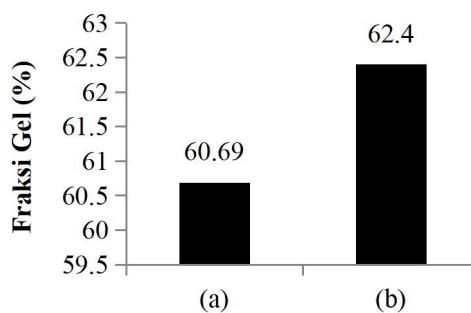
Hidrogel PVA-Alginat Hasil Ekstraksi dengan Antibakteri AgNO₃ dan ZnO

Alginat hasil ekstraksi kemudian dibuat hidrogel PVA-alginat ekstraksi-AgNO₃ menggunakan komposisi alginat komersial dan konsentrasi AgNO₃ terbaik yang telah dihasilkan pada pembuatan hidrogel sebelumnya. Hasil kemampuan mengembang menggunakan alginat hasil ekstraksi menunjukkan hasil yang tidak berbeda jauh dengan hasil pada alginat komersial (Gambar 11). Hal ini menandakan bahwa alginat hasil ekstraksi memiliki mutu yang sama dengan alginat komersial sehingga sifat fisik hidrogel yang dihasilkan tidak berbeda.



Gambar 11 Kemampuan mengembang hidrogel dengan hasil ekstraksi dan komersial

Komposisi PVA-alginat-ZnO optimum dari alginat komersial digunakan kembali pada pembuatan hidrogel PVA-alginat-ZnO namun menggunakan alginat yang telah diekstraksi. Nilai fraksi gel yang dihasilkan tidak berbeda dengan alginat komersial (Gambar 12).



Gambar 12 Fraksi gel hidrogel menggunakan alginat (a) hasil ekstraksi dan (b) komersial

Aktivitas Antibakteri Hidrogel PVA-Alginat dengan Antibakteri AgNO₃ dan ZnO

Uji aktivitas antibakteri dari PVA-alginat dengan AgNO₃ dan ZnO dilakukan dengan dua bakteri patogen, yaitu *Staphylococcus aureus* (bakteri Gram positif) dan *Escherichia coli* (bakteri Gram negatif) yang biasanya menyebabkan infeksi pada luka. Antibakteri yang digunakan adalah ZnO. ZnO dapat membunuh bakteri dengan memanfaatkan sifat fotokatalitiknya. Reaksi fotokatalis dapat menghasilkan radikal OH, anion superoksida O²⁻, H₂O₂, dan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Radikal oksigen yang dihasilkan melalui proses fotokatalitik menyebabkan efek penghambatan pada pertumbuhan bakteri sehingga menyebabkan perubahan struktur membran sel dan pada level tertentu dapat menyebabkan bakteri tersebut mati (Novarini dan Wahyudi 2011), selain itu oksida logam ZnO dapat menyebabkan kerusakan dinding sel bakteri. Hal ini disebabkan interaksi partikel ZnO dengan fosfor dan sulfur yang terkandung dalam DNA bakteri. Interaksi tersebut mengakibatkan DNA bakteri kehilangan kemampuan bereplikasi, mencegah pembelahan sel, dan pertumbuhan sel (Arabi *et al.* 2012).

Konsentrasi ZnO yang digunakan sebesar 1000 ppm, 3000 ppm, dan 5000 ppm menunjukkan perbedaan aktivitas antibakteri pada kedua bakteri uji. Peningkatan konsentrasi ZnO menyebabkan peningkatan aktivitas antibakteri. Zona inhibisi yang terbentuk akibat penambahan PVA-alginat hasil ekstraksi lebih jelas dibandingkan dengan alginat komersial.

Diameter zona inhibisi PVA-alginat-ZnO pada bakteri *E. coli* maupun *S. aureus* mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya konsentrasi ZnO yang ditambahkan (Tabel 3). Hidrogel PVA-alginat-ZnO lebih mampu menghambat pertumbuhan terhadap bakteri *S. aureus* dibandingkan dengan bakteri *E. coli* berdasarkan zona inhibisi yang dihasilkan. Menurut Nachfi *et al.* (2012) hal ini disebabkan adanya perbedaan struktur sel dari kedua bakteri. Bakteri gram negatif (*E. coli*) tersusun atas dinding sel yang kompleks dengan lapisan peptidoglikan yang tipis mengelilingi membran luar, dan juga memiliki membran dalam. ZnO mula-mula berikatan terlebih dahulu dengan membran luar sel yang mengandung lipoprotein, lipopolisakarida, dan fosfolipid. Membran luar melindungi membran permukaan sel bakteri, sehingga lebih sulit untuk menembus dinding sel bakteri. Bakteri gram positif (*S. aureus*) tersusun atas sel tebal multilayer peptidoglikan yang berongga, yang mengakibatkan nanopartikel ZnO mudah masuk menembus sel dan menyebabkan kebocoran intraselular, sehingga sel mati secara perlahan. Aktivitas antibakteri yang dihasilkan sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Novarini dan Wahyudi (2011) yang melaporkan bahwa bakteri gram negatif, seperti *E. coli* lebih tahan terhadap sifat antibakteri ZnO dibandingkan dengan bakteri gram positif *S. aureus* sehingga zona inhibisi yang dihasilkan bakteri *E. coli* lebih kecil.

Hidrogel PVA-alginat sebagai kontrol negatif (tanpa penambahan ZnO) memberikan hasil yang positif sebagai antibakteri, yaitu dengan terbentuknya zona bening. Hal ini disebabkan alginat memiliki sifat sebagai antibakteri (Mutia *et al.* 2011). Namun, penambahan ZnO sebesar 1000 ppm tidak menunjukkan adanya daya hambat baik pada bakteri *E. coli* maupun *S. aureus*. Hal ini disebabkan kurangnya sterilisasi saat preparasi sampel sehingga berpengaruh

kepada daya hambat antibakteri yang dihasilkan dan mengakibatkan aktivitas antibakteri yang dihasilkan tidak maksimal. PVA-alginat-ZnO 5000 ppm memiliki rasio aktivitas paling besar pada alginat komersial sehingga ditetapkan sebagai komposisi optimum. Komposisi optimum tersebut kemudian digunakan kembali pada alginat hasil ekstraksi. Zona inhibisi yang dihasilkan pada alginat hasil ekstraksi lebih baik dibanding dengan alginat komersial. Rasio aktivitas antibakteri alginat hasil ekstraksi sebesar 0.1111 untuk bakteri uji *E. coli* dan 0.1286 untuk bakteri uji *S. aureus*.

Aktivitas Antibakteri Hidrogel PVA-alginat-AgNO₃

Hasil pengujian aktivitas antibakteri pada hidrogel ini dapat dilihat pada Tabel 5. Hasil pada Tabel 5 menunjukkan bahwa hidrogel PVA-alginat sebagai kontrol negatif (tanpa penambahan AgNO₃) memberikan hasil yang positif sebagai antibakteri, yaitu dengan terbentuknya zona bening. Hal ini disebabkan sifat dari alginatnya sendiri, selain dapat membentuk gel, juga dapat sebagai zat antibakteri. Sifat antibakteri pada alginat berasal dari rumput laut coklat *Sargassum* sp. yang mengandung iodin, tanin, fenol, Mg, Na, Cu yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Bachtiar *et al.* 2012). Hal tersebut menandakan bahwa alginat yang diekstraksi belum murni sehingga masih terdapat garam-garam mineral dan zat-zat lainnya yang berpotensi sebagai bahan antibakteri. Zona bening yang tampak setelah diinkubasi selama 24 jam menandakan bahwa bakteri yang diuji tidak dapat tumbuh.

Tabel 5 Aktivitas antibakteri hidogel PVA-alginat-AgNO₃

Sampel	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	Zona inhibisi (mm)	Rasio aktivitas inhibisi	Zona inhibisi (mm)	Rasio aktivitas inhibisi
Kontrol + (Tetrasiklin 1000 ppm)	18	-	35	-
Kontrol - (PVA-alginat)	2	-	0	-
PVA-alginat-AgNO ₃ 170 ppm	0	-	0	-
PVA-alginat-AgNO ₃ 425 ppm	0	-	0	-
PVA-alginat-AgNO ₃ 850 ppm	1	0.056	2.5	0.071
PVA-alginat-AgNO ₃ 850 ppm (hasil ekstraksi)	0	-	0	-
PVA-alginat komersial-ZnO 1000 ppm	0	-	0	-
PVA-alginat komersial-ZnO 3000 ppm	1	0.0555	1	0.0286
PVA-alginat komersial-ZnO 5000 ppm	2	0.1111	2	0.0571
PVA-alginat ekstraksi-ZnO 5000 ppm	2	0.1111	4.5	0.1286

Konsentrasi AgNO₃ yang digunakan berdasarkan Tabel 5, yaitu 170 ppm, 425 ppm, dan 850 ppm. Aktivitas penghambatan antibakteri baru terlihat dengan

penambahan konsentrasi AgNO_3 850 ppm. Hidrogel PVA-alginat- AgNO_3 850 ppm lebih terlihat aktivitas penghambatannya pada bakteri *S. aureus* dibandingkan bakteri *E. coli* berdasarkan zona inhibisi yang dihasilkan. Sari *et al.* (2010) menyatakan adanya perbedaan pada komponen penyusun dinding sel kedua bakteri. Bakteri *S. aureus* (bakteri Gram positif) memiliki struktur dinding sel yang lebih sederhana, terdiri atas sel tebal multilayer peptidoglikan dan asam teikoat sehingga memudahkan ion Ag^+ masuk ke dalam sel dan berinteraksi dengan DNA sehingga menghambat replikasi sel dan sel akan mati secara perlahan-lahan, sedangkan bakteri *E. coli* (bakteri Gram negatif) struktur dinding selnya lebih kompleks, tersusun atas sel tipis peptidoglikan yang mengelilingi membran luar sehingga ion Ag^+ akan berikatan terlebih dahulu dengan membran luar sel yang mengandung lipoprotein, lipopolisakarida, dan fosfolipid, yang mengakibatkan aktivitas ion Ag^+ menurun.

Hasil uji aktivitas antibakteri pada penambahan konsentrasi AgNO_3 170 ppm, 425 ppm, dan 850 ppm (hasil ekstraksi) menunjukkan tidak adanya aktivitas penghambatan terhadap bakteri yang diuji, yang ditandai dengan tidak adanya zona bening yang tampak di sekitar cakram. Hal ini bukan berarti tidak dapat menghambat aktivitas bakteri dikarenakan perak yang telah terimpregnasi kuat pada hidrogel sehingga sulit untuk berpenetrasi pada media padat (*Nutrient Agar*). Penelitian yang dilakukan oleh Cahyaningsih *et al.* (2015) membuktikan bahwa adanya aktivitas antibakteri AgNO_3 dengan konsentrasi 0.5 mM atau 85 ppm sampai 1 mM atau 170 ppm yang dapat terlihat dari uji dengan media cair dibandingkan dengan media padat.

Rasio aktivitas inhibisi digunakan untuk membandingkan efektivitas sifat antibakteri dari logam oksida terhadap kontrol positif yang digunakan, yaitu Tetrasiklin. Jika nilai rasio aktivitas inhibisi rendah maka zat antibakteri yang diuji belum efektif dalam menghambat atau bahkan membunuh bakteri uji. Jika nilai rasio aktivitas inhibisi mendekati 1 maka zat antibakteri yang diuji memiliki kemiripan sifat bakterisidal atau bakteriostatik dengan kontrol positif yang digunakan. Nilai rasio aktivitas inhibisi PVA-alginat- AgNO_3 850 ppm sebesar 0.056 terhadap bakteri *E. coli* dan 0.071 terhadap bakteri *S. aureus*, sedangkan rasio aktivitas inhibisi menggunakan AgNO_3 170 dan 425 ppm serta 850 ppm (alginat hasil ekstraksi) tidak menunjukkan adanya nilai rasio aktivitas inhibisi. Nilai rasio aktivitas inhibisi PVA-alginat- AgNO_3 850 ppm yang dihasilkan rendah atau kurang dari 1, sehingga zat antibakteri AgNO_3 belum efektif dalam menghambat ataupun membunuh bakteri. Rendahnya nilai rasio aktivitas inhibisi ini dimungkinkan kurang sterilnya sampel saat preparasi sehingga berpengaruh terhadap hasil aktivitas antibakterinya yang kurang terlihat. Meskipun demikian, hidrogel PVA-alginat- AgNO_3 berpotensi sebagai hidrogel antibakteri.

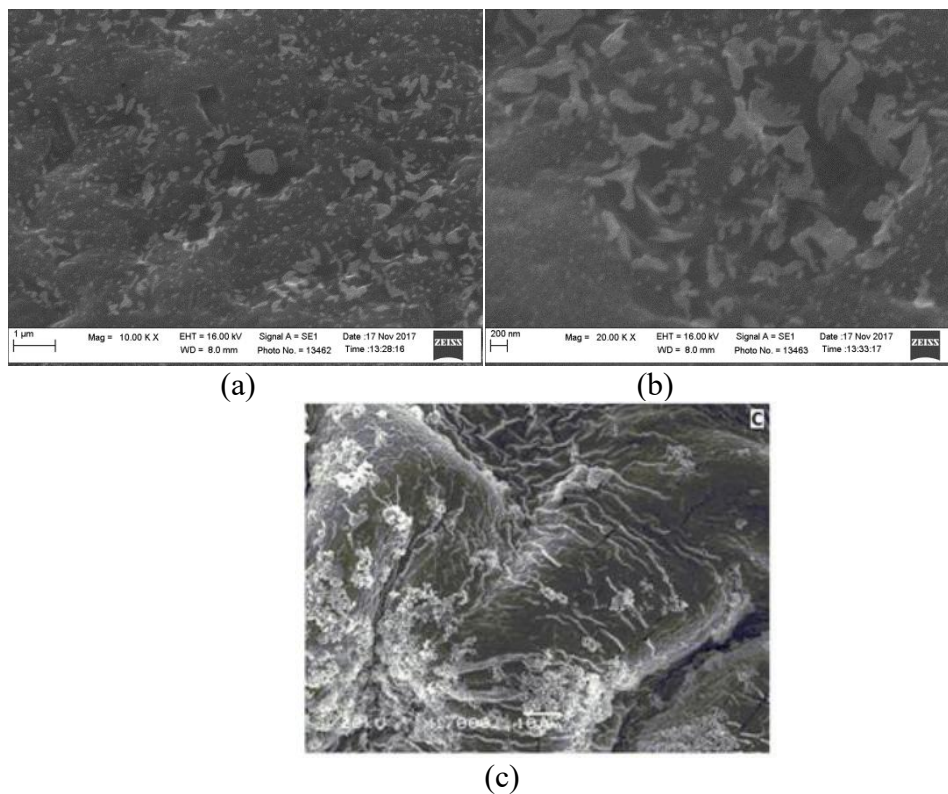
Morfologi Hidrogel PVA-Alginat- AgNO_3

Morfologi permukaan hidrogel PVA-alginat- AgNO_3 dianalisis menggunakan mikroskop elektron payaran (SEM). Analisis menggunakan SEM merupakan suatu teknik analisis untuk mengetahui morfologi, bentuk, ukuran, dan porositas dari hidrogel. Gambar 13 menunjukkan mikrograf dari PVA-alginat- AgNO_3 5 mM dengan perbesaran 1000 \times , 2000 \times , 5000 \times , 10000 \times , dan 20000 \times . Morfologi permukaan hidrogel pada perbesaran 2000 \times terlihat distribusi AgNO_3

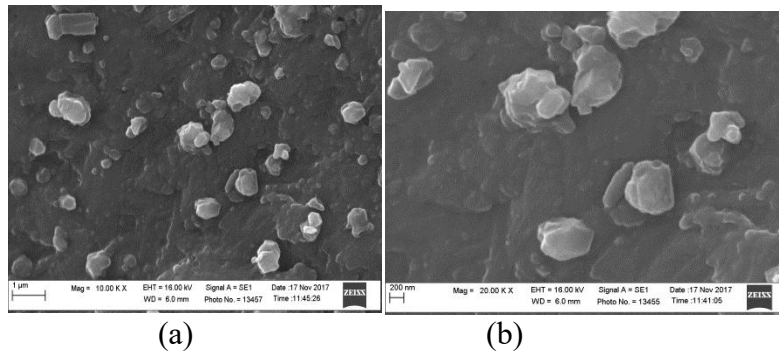
yang kurang merata di antara PVA-alginat, ditandai dengan gambar berwarna terang merupakan distribusi AgNO_3 dan gambar berwarna gelap merupakan distribusi PVA-alginat. Adanya distribusi yang kurang merata dapat disebabkan larutan kurang homogen. Penelitian Abu-Saied *et al.* (2017) melaporkan bahwa morfologi permukaan hidrogel PVA-alginat-nanopartikel perak juga tidak beraturan. Morfologi permukaan hidrogel pada perbesaran $20000\times$ tidak terlihat pori-pori hidrogel karena yang terlihat hanya distribusi AgNO_3 .

Morfologi Hidrogel PVA-alginat-ZnO

Analisis menggunakan mikroskop elektron payaran (SEM) adalah teknik analisis untuk mengetahui morfologi, bentuk, ukuran, serta porositas dari hidrogel. Gambar 11 menunjukkan mikrograf dari PVA-alginat-ZnO 0.5% dari perbesaran $1000\times$, $2000\times$, $5000\times$, $10000\times$, dan $20000\times$. Terlihat cuplikan PVA-alginat-ZnO 0.5% pada perbesaran $5000\times$ menunjukkan bahwa ZnO tidak terdistribusi secara merata di antara PVA-alginat, gambar berwarna terang merupakan distribusi logam ZnO, sedangkan gambar berwarna gelap merupakan PVA-alginat. Distribusi yang tidak merata dapat disebabkan karena larutan belum homogen. Hebeish *et al.* (2013) melaporkan morfologi dari CMC yang ditambahkan komposit berupa logam menghasilkan penampang yang berbentuk bola.



Gambar 13 Morfologi PVA-alginat- AgNO_3 5 mM pada perbesaran a) $10000\times$, b) $20000\times$, dan c) hidrogel PVA alginat-nanopartikel perak oleh Abu Saied *et al.* (2017)



Gambar 14 Morfologi PVA-alginat-ZnO 0.5% pada perbesaran a) 10000x dan b) 20000x

SIMPULAN

Hidrogel antibakteri sebagai matriks penutup luka berhasil dibuat dari campuran PVA, alginat, antibakteri AgNO_3 dan Hidrogel PVA-alginat- AgNO_3 dengan kombinasi proses beku-leleh dan iradiasi gama dapat menyerap air dengan lebih baik pada kombinasi komposisi PVA-alginat 10:3 (%) dengan penambahan antibakteri AgNO_3 5 mM dan dengan penambahan ZnO (0.5%). Hidrogel PVA-alginat ekstraksi- AgNO_3 menghasilkan nilai yang tidak berbeda jauh dibandingkan dengan hidrogel PVA-alginat komersial- AgNO_3 . Hal yang sama terjadi pada PVA-alginat komersial-ZnO. Aktivitas antibakteri lebih terlihat pada hidrogel menggunakan alginat komersial dibandingkan alginat hasil ekstraksi. Morfologi permukaan hidrogel terlihat adanya pori-pori hidrogel dan distribusi AgNO_3 maupun distribusi ZnO.

SARAN

Perlu dilakukan pemurnian alginat hasil ekstraksi sehingga akan menghasilkan alginat dengan kualitas yang lebih baik dan memenuhi syarat sebagai bahan baku farmasi. Pengujian antibakteri dengan metode yang lain juga perlu dilakukan agar hasil yang diperoleh lebih baik dan akurat. Penelitian lebih lanjut dapat dilakukan dengan mengaplikasikan hidrogel pada luka.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. *Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical of Chemist*. Arlington :The Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- Arabi F, Imandar M, Negahdary M, Noughabi T, Akbaridastjerdi H, Fazilati M. 2012. Investigation anti-bacterial effect of Zinc Oxide nanoparticles upon life of *Listeria Monocytogenes*. *Annals of Biol Research*. 3(7):3679–3685.
- Cahyaningsih D, Dahliaty A, Linggawati A. 2015. Sintesis karakterisasi membran biomaterial untuk keperluan klinis. *Seminar Nasional Keselamatan*

- Kesehatan Lingkungan VI*. 2010 Jun 15-16; Jakarta, Indonesia. Jakarta (ID): Patir Batan. p. 60-70.
- Chapiro. 1962. *Radiation Chemistry of Polymeric Systems*. New York (NY): John Willeys and Sons
- Dafader NC, Manir MS, Alam MF, Swapna SP, Tahmina A, Huq D. 2015. Effect of kappa-carrageenan on the properties of poly(vynil alcohol) hydrogel prepared by the application of gama radiation. *Sop Transactions on Applied Chemistry*. 2(1):1-12.doi: 1015764/STAC.2015.01001.
- Darwis D, Nurlindar F, Warastuti Y, Hardiningsih L. 2010. Pengembangan alginat berbasis polivinil piroolidon (PVP) hasil iradiasi berkas elektron sebagai plester penurun demam. *Jurnal Saintek Nuklir Indonesia*. 11(2):57-66.
- Draget KI. 2000. Alginates. In Philips, GO and Williams PA (eds). *Handbook of Hydrocolloids*. CRC Press. p. 379–395.
- Erizal, Abidin Z. 2011. Sintesis hidrogel campuran polivinil alkohol (PVA)-natrium alginat dengan kombinasi beku-leleh dan radiasi gama untuk bahan pembalut luka. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*. 7(1):21-28.
- Erizal, Dewi SP, Sudrahat A. 2009. Sintesis hidrogel polietilen oksida berikatan silang dan imobilisasi antibiotik dengan cara induksi radiasi gama untuk aplikasi pembalut luka. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*. 5(2):177-193.
- Ertesvag H, Vall S, Skjak-Break G. 2009. *Enzymatic Alginate Modification*. Dalam BHA. Rehm (Ed). *Alginates: Biology and Aplications* p. 102-122 Springer-Verlag. Berlin
- FCC. 1993. *Food Chemical Codex*. Washington (DC): National Academy Press.
- Gulrez SKH, Al Assaf S, Philips GO. 2011. Hydrogels: methods of preparation, characteritaton, and aplication, progress in molecular and environmental bioengineering – Dari Analysis and Modeling to Technology Aplication, Prof. Angelo Carpi (Ed), ISBN: 978-953-307-268-5, InTech, Tersedia pada: [http://www.inthecopen.com/books/progrees-in-molecular-and enviromental-bioengineeringfrom-analysis-and-modeling-to-technology-applications/hydrogels-methods-of-preparation-characterisation-and applications](http://www.inthecopen.com/books/progrees-in-molecular-and-enviromental-bioengineeringfrom-analysis-and-modeling-to-technology-applications/hydrogels-methods-of-preparation-characterisation-and-applications).
- Hassan CM, Peppas NA. 2000. Structure and morphology of freeze/thawed PVA hydrogels. *Macromolecules*. 33(7):2472-2479. doi: 10.1021/ma9907587.
- Heibeish A, Hashem M, Abd El-Hady MM, Sharaf S. 2013. Development of cmc hydrogels loaded with silver nan0-particles for medical applications. *Carbohydr Polym* 92(2013): 407-4013.
- Jayakumar R, Prabakaran M, Sudheesh KPT, Nair SV, Tamura H. 2011. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnol Adv*. 29(3):32-337. doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.01.005.
- Kamoun EA, Kenawy ES, Tamer MT, Mahmoud A, Meligy-EL, Mohammed S, Eldin M. 2013. Poly (vinyl alcohol)-alginate physically crosslinked hydrogel membranes for wound dressing applications: Characterization and bio-evaluation. *Arabian Journal of Chemistry*. 8(1):38-47.doi:10.1016/j.arabjc.2013.12.003.

- Kanade KG, Kale BB, Aiyer RC, Das BK. 2006. Effect of solvents on the synthesis of nano-size zinc oxide and its properties. *Materials Research Bulletin*. 41(3):590-600.doi:10.1016/j.materresbull.2005.09.002.
- Kanatt SR, Rao MS, Chawla SP, Sharma A. 2012. Active chitosan-polyvinyl alcohol films with natural extracts. *Food Hydrocoll*. 29(1):290-297. doi: 10.1016/j.foodhyd.2012.03.005.
- Khoylou F dan Naimian F. 2009. Radiation Synthesis of Superabsorbent Polyethylene Oxide/Tragacanth Hydrogels, *Radiat Phys Chem*. 78:195-198.
- Maharani MA, Widyayanti R. 2009. Pembuatan alginat dari rumput laut untuk menghasilkan produk dengan rendemen dan viskositas tinggi. [prosiding]. Semarang (ID): Universitas Diponegoro.
- Mohandas A, Kumar PTS, Raja B, Lakshmanan VK, Jayakumar R. 2015. Exploration of alginate hydrogel/nano zinc oxide composite bandages for infected wounds. *International Journals of Nanomedicine*. Vol 10:53–66.doi:10.2147/IJN.S79981.
- Mushollaeni W, Rusdiana E. 2011. Karakterisasi natrium alginat dari *Sargassum* sp, *Turbinaria* sp, dan *Padina* sp. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 22(1):26-32.
- Mutia T, Eriningsih R, Safitri R. 2011. Membran alginat sebagai pembalut luka primer dan media penyampaian obat topikal untuk luka yang terinfeksi. *Jurnal Riset Industri*. 5(2) : 161-174.
- Nachfi AM, Nassri R, Sheibani S, Robal M. 2012. Antimicrobial, rheological, and physicochemical properties of sago starch films filled with nanorod-rich zinc oxide. *Food Eng*. 113: 511-519.doi:10.1016/j.jfoodeng.2012.07.017.
- Novarini E, Wahyudi T. 2011. Sintesis nanopartikel seng oksida (ZnO) menggunakan surfaktan sebagai stabilisator dan aplikasinya pada pembuatan tekstil antibakteri. *Jurnal Arena Tekstil*. 26(2): 61-120.
- Perwitasari FLR, Aminatun, Sumarsih S. 2012. Karakterisasi *in vitro* dan *in vivo* komposit alginat-polivinil alkohol-ZnO nano sebagai *wound dressing* antibakteri. [prosiding]. Surabaya (ID): Departemen Fisika, Universitas Airlangga.
- Putrision AMT, Rudiyanasyah, Harlia. 2013. Pengaruh konsentrasi Na₂CO₃ terhadap rendemen natrium alginat dari *Sargassum cristaeifolium* asal perairan Lemukutan. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. 2(2): 112-117.
- Raharjo H, Prasetyoko D. 2009. Sintesis partikel ZnO dengan metode kopresipitasi dan karakterisasinya. *Jurnal Teknik Pomits* :1-5.
- Shalumon KT, Anulekha KH, Nair SV, Chennazhi KP, Jayakumar R. 2011. Sodium alginate/poly(vinyl alcohol) ZnO composite nanofibers for antibacterial wound dressing. *Int J Biol Macromol*. 49(1):247-254. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2011.04.005.
- Stasko J, Kalnins M, Dzene A, Tupureina V. 2009. Poly(vinyl alcohol) hydrogels. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences*. 58(1):63-66.doi: 10.3176/proc.2009.1.11.
- Subaryono. 2010. Pengaruh dekantasi filtrat pada proses ekstraksi alginat dari *Sargassum* sp. terhadap mutu produk yang dihasilkan. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 6(2):165-174.

- Wijayani A, Ummah K, Tjahjani S. 2005. Characterization of carboxymethyl cellulose (CMC) from *Eichornia crassipes* (Mart) Solms. *Journals Chemistry Indonesia*. 5(3):228-231.
- Zailanie K, Susanto T, Simon BW. 2001. Ekstraksi dan pemurnian alginat dari *Sargassum filipendula* kajian dari bagian tanaman, lama ekstraksi, dan konsentrasi isopropanol. *Jurnal Teknologi Petanian*. 2(1): 10-27.
- Zohourian-Mehr MJ, Kabiri K. 2008. Superabsorbent polymer materials: a review. *Polymers Iranian*. 17(6):45

