

PREPARASI DAN UJI KUALITATIF Cu-Al₂O₃-MONTMORILLONIT
SEBAGAI BAHAN ANTIBAKTERI *Staphylococcus aureus*

Karna Wijaya, Iqmal Tahir, Laily Awalina M

Laboratorium Kimia Fisika, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta

Telp./Fax. : 0274-545188

e-mail address : karna_ugm@yahoo.com

Abstrak : Telah dilakukan preparasi dan uji kualitatif Cu-Al₂O₃-montmorillonit sebagai bahan antibakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian dimulai dengan melakukan preparasi montmorillonit terpillar alumina (Al₂O₃-montmorillonit). Setelah dilakukan pemiliran dengan ion Keggin [Al₁₃O₄(OH)₁₂(H₂O)₁₂]⁷⁺, kemudian dilakukan kalsinasi dengan menggunakan furnace pada temperatur 300°C selama 5 jam. Struktur yang terbentuk dianalisis dengan teknik difraksi sinar-X. Selanjutnya dilakukan impregnasi Cu ke dalam Al₂O₃-montmorillonit. Kandungan Cu yang terimpregnasikan dianalisis dengan menggunakan metode analisis aktivasi neutron yakni sebesar 0,69%. Uji kualitatif dilakukan terhadap sifat antibakteri dengan menggunakan metode desinfektan. Bahan yang diujikan adalah Al₂O₃-montmorillonit, Cu-Al₂O₃-montmorillonit, dan larutan Cu dengan konsentrasi 0,69%. Penambahan bahan dilakukan dengan 2 cara, yakni serbuk dan supernatan. Variabel yang divariasikan adalah konsentrasi bahan dan waktu kontak dengan bakteri. Hasil kajian menunjukkan bahwa penggunaan Al₂O₃-montmorillonit sebagai kontrol pada berbagai variasi konsentrasi dan waktu kontak tidak bersifat sebagai bahan antibakteri sedangkan pemakaian Cu-Al₂O₃-montmorillonit pada konsentrasi 10, 20, 30 mg/mL belum efektif sebagai bahan antibakteri, baru pada konsentrasi 50 mg/mL setelah kontak 10 menit menunjukkan karakter antibakteri dan dengan konsentrasi 60 mg/mL (mengandung 0,414 mg Cu/mL) efektif sebagai antibakteri setelah waktu kontak 5 menit. Untuk larutan Cu dengan konsentrasi 0,69% (b/b) efektif sebagai bahan antibakteri setelah waktu kontak 5 menit. Penambahan secara serbuk dan supernatan ternyata tidak memberikan hasil yang jauh berbeda. Dari hasil studi persentase pelepasan kation tembaga oleh bahan diperoleh hasil bahwa rata-rata pelepasan Cu pada penambahan serbuk adalah sebesar 1,64% dan pada penambahan supernatan mencapai 0,45%.

Kata kunci : Montmorillonit, antibakteri, *Staphylococcus aureus*.

Abstract : The preparation and qualitative test of Cu-Al₂O₃-montmorillonite as an antibacterial material of *Staphylococcus aureus* has been done. The research was initiated by preparation of Al₂O₃-montmorillonite. Al₂O₃-montmorillonite was prepared by intercalating Keggin ions [Al₁₃O₄(OH)₁₂(H₂O)₁₂]⁷⁺, into interlayer of montmorillonite followed by calcining the resulting material using furnace at 300 °C for 5 hours to convert the Keggin ions into the oxide form. The calcined product then was characterized using X-ray diffraction method. The Cu-Al₂O₃-montmorillonite was prepared by copper impregnation method toward aluminum pillared clay. The concentration of Cu on Cu-Al₂O₃-montmorillonite was analysed by neutron activated analysis. The antibacterial characteristic qualitative test using Al₂O₃-montmorillonite, Cu-Al₂O₃-montmorillonite and solution of Cu²⁺ as an antibacterial material were conducted by desinfectant method. The addition of sample was done by two ways, powder and supernatant. The concentration of sample and contact time with *S. aureus* suspension was varied. Al-PILC and Cu²⁺ solution 0.69% was used as a control variable.

The characterization results exhibited that both Al₂O₃-montmorillonite and Cu-Al₂O₃-montmorillonite were formed. Variation in concentration and contact time showed that Al₂O₃-montmorillonite has no characteristic as an antibacterial material. Whereas, Cu-Al₂O₃-montmorillonite for concentration of 50 mg/mL and of 60 mg/mL were effective as an antibacterial material after being contacted with *S. aureus*, for 10 and 5 min, respectively. The usage of Cu²⁺ solution control of 0.69% was effective as antibacterial material after being contacted for 5 min with *S. aureus* suspension. The addition of sample in powder and supernatant phase giving an insignificant result. Desorption of Cu²⁺ from Cu-Al₂O₃-montmorillonite from the powder and supernatant methods were of 1.64% and 0.45%, respectively.

Key words : Montmorillonite, antibacterial, *Staphylococcus aureus*.

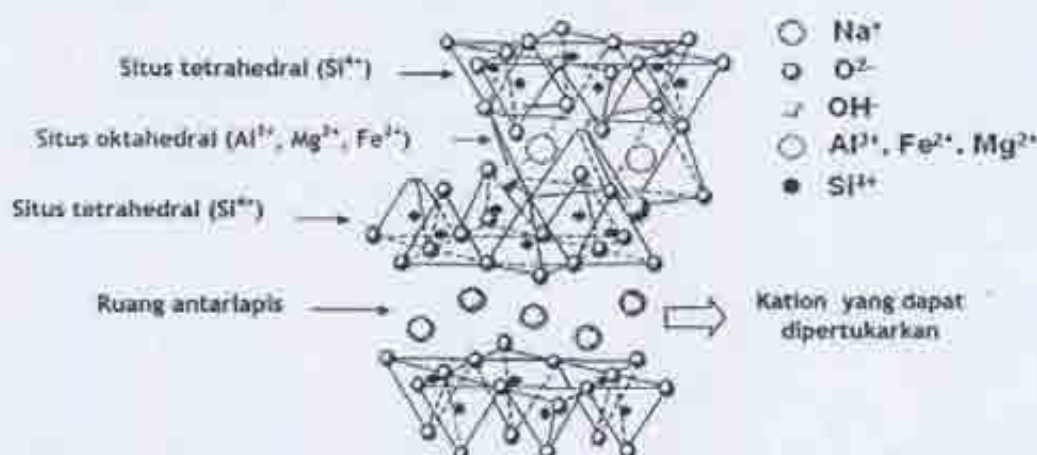
PENDAHULUAN

Latar Belakang Masalah

Menurut Millot (1970), montmorilonit sebagian besar dapat terbentuk dari tufa, tetapi dapat juga terbentuk dalam cekungan sedimen yang bersifat basa dimana karbonat, silika pipih, atau fosfat laut yang terendapkan sebagai flint, kristobalit (dari montmorilonit) atau bersenyawa dengan aluminium dan magnesium. Lempung adalah bahan yang relatif banyak kita jumpai di Indonesia. Bahan ini tersebar hampir di seluruh wilayah Indonesia. Secara morfologis tanah lempung umumnya berwarna agak kecoklat-coklatan dan mudah dibentuk dalam keadaan basah serta mengeras dengan warna kemerah-merahan jika dibakar, bila diraba terasa licin dan lunak, dan bila dimasukkan ke dalam air akan menyerap air. Dalam kehidupan sehari-hari tanah lempung digunakan sebagai bahan pembuatan batu bata, tembikar dan genteng. Selain itu dalam dunia industri, tanah lempung dimanfaatkan sebagai bahan pengisi dalam industri kertas, cat dan karet, sebagai bahan penukar ion, katalis dan adsorben.

Montmorilonit merupakan suatu jenis lempung berupa spesies silikat aluminium terhidrasi dengan sedikit substitusi dan merupakan komponen bentonit dengan persentase tertinggi. Montmorilonit mempunyai sifat mengembang (*swelling*), memiliki kapasitas tukar kation (KTK) sebesar 70-95 meq/100 g dan memiliki luas permukaan spesifik sebesar 40-50 m²/g (Van Olphen dan Pripiat, 1979). Montmorilonit memiliki kelemahan apabila dipanaskan pada temperatur lebih dari 200°C maka akan mengalami kerusakan (*collapse*) pada struktur oktahedral sehingga berakibat pada pengurangan kemampuan katalitik. Penggunaan dan pemanfaatan lempung tidak termodifikasi umumnya relatif kurang luas. Untuk meningkatkan kemampuan kerjanya, maka banyak dilakukan studi untuk memodifikasi lempung seperti aktivasi lempung atau pemiliran lempung dengan berbagai senyawa organik, senyawa kompleks dan oksida-oksida logam. Penelitian lempung kembali marak setelah keberhasilan Briendley pada tahun 1970an mensintesis lempung yang diberi penyangga oksida-oksida logam yang dinamakan *pillared clay*. Pemiliran lempung merupakan proses yang memungkinkan merubah struktur lempung yang tak tahan secara termal menjadi struktur yang stabil dan berpori. Dalam proses ini terbentuk partikel oksida kuat yang berperan sebagai pilar/penyangga yang mencegah terjadinya kerusakan, meskipun digunakan sebagai katalis *cracking* (Vaughan dan Lussier, 1979). Setelah dilakukan berbagai macam modifikasi terhadap lempung maka pemanfaatan lempung kini tidak hanya berupa bahan baku pembuatan tembikar ataupun genteng.

Lempung terpillar merupakan material yang memiliki porositas yang permanen, karena adanya senyawa kimia yang berperan sebagai tiang pemilar pada ruang antarlapis lempung yang disebut sebagai molekul penyangga. Tujuan dari proses pemiliran ini adalah untuk membentuk mikroporositas di dalam sistem. Hal ini mudah diperoleh melalui kombinasi antara lembaran montmorilonit bermuatan negatif relatif rendah dengan molekul penyangga bermuatan positif relatif tinggi. Dalam kondisi ini penyangga akan terdistribusi secara homogen di seluruh permukaan sistem dua dimensi. Pada dasarnya setiap molekul atau partikel yang mampu menembus ruang antarlapis lempung dinamakan molekul penyangga. Salah satu molekul yang dapat dijadikan penyangga pada montmorilonit adalah oksida logam seperti Al₂O₃. Diantara lempung terpillar tersebut, lempung terpillar Al₂O₃ menunjukkan bahwa proses hidrolisisnya mudah dikontrol dan dimensi pilar tidak terlalu sensitif pada kondisi hidrolisis yang berbeda. Lempung terpillar Al₂O₃ menghasilkan luas permukaan yang cukup besar. Selain itu selalu terbentuk jarak antarlapis dengan ukuran 7-10 Å (Cool dan Vansant, 1998). Oleh karena itu lempung terpillar Al₂O₃ sangat menarik dikembangkan untuk kegunaan lain yang lebih luas, salah satunya sebagai pengemban logam yang bersifat antibakteri.



Gambar 1. Struktur Montmorillonit

Sebagai bahan antimikroba lempung montmorillonit harus dimodifikasi terlebih dahulu dengan kation-kation logam berat yang bersifat bakterisida atau fungisida, seperti : Cu, Ag, Zn, atau Hg (Gazra dkk., 2000). Fungsi bahan antimikroba adalah untuk mematikan atau menghambat pertumbuhan bakteri yang merugikan kesehatan manusia (*pathogen*), seperti misalnya *Escheria coli*, penyebab berbagai macam penyakit seperti diare, disentri, *gastrointestinal* /gangguan lambung (Salle, 1954). Dewasa ini bakteri semakin menyebar pesat di lingkungan. Untuk mengurangi penyebaran tersebut diperlukan suatu langkah pencegahan. Contohnya seperti bakteri *Staphylococcus aureus* yang banyak dijumpai di lingkungan perairan dan sebagian di udara. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi *meningitis*, menimbulkan nanah pada kontaminasi luka, *pneumonia*, *meningitis*, *empiema*, *endokarditis*, bahkan menyebabkan keracunan makanan. *World Health Organization (WHO)* merekomendasikan bahwa air yang akan digunakan sebagai air minum harus mengandung *fecal* dan total *coliform* sebesar 0 cfu/ 100 mL sampel air (Anonim, 1996). Untuk keperluan itu diperlukan sterilisasi mikroorganisme. Penghilangan dan inaktivasi mikroorganisme patogen merupakan langkah terakhir pada pengolahan air minum, dengan penambahan agen kimia dan fisika seperti klorin dan turunannya, AgNO₃, atau radiasi UV. Dengan semakin banyaknya ditemukan bahan antibakteri baru dari berbagai jenis material berlapis seperti lempung dan zeolit akan membantu manusia untuk lebih mengembangkan berbagai produk antibakteri dan desinfektan.

Dalam tulisan ini akan dipaparkan studi mengenai host-material baru yang dapat digunakan sebagai antibakteri *S. aureus*, yakni impregnasi kation logam Cu (tembaga) ke dalam lempung montmorillonit terpillar alumina (Al₂O₃-montmorillonit).

METODE PENELITIAN

Preparasi montmorillonit alam

Sebanyak 100 g montmorillonit yang lolos pengayak 250 mesh dicuci dengan 2000 mL air bebas ion dan kemudian disaring. Residu yang didapatkan dikeringkan dalam oven pada temperatur 110°C selama 24 jam, kemudian digerus dan diayak dengan pengayak 250 mesh. Selanjutnya sampel ini dinamakan montmorillonit.

Pembuatan larutan pemilar atau oligomer

Kristal AlCl₃.6H₂O sebanyak 72,45 g dilarutkan dalam air bebas ion hingga volume 750 mL, diperoleh larutan AlCl₃ 0,4 M. Selain itu dibuat pula larutan NaOH 0,4 M. Dengan melarutkan 24 g kristal NaOH ke dalam air bebas ion hingga volume 1500 mL. Selanjutnya larutan AlCl₃ dihidrolisis dengan larutan NaOH 0,4 M. Larutan NaOH ditambahkan secara perlahan-lahan kedalam larutan AlCl₃ sambil diaduk dengan pengaduk magnet untuk menghindari pengendapan. Larutan diaduk di dalam gelas beaker 3000 mL selama 1 jam dan dilakukan pengukuran pH, sehingga diperoleh pH larutan oligomer sebesar 4,2. Larutan oligomer ini didiamkan selama 7 hari pada temperatur kamar untuk membentuk spesies ion keggin berupa [Al₁₃O₄(OH)₁₄12H₂O]⁷⁺.

Pembuatan montmorilonit terpillar alumina (Al_2O_3 -montmorilonit)

Dibuat suspensi montmorilonit dengan melarutkan 10 g montmorilonit bersih ke dalam 500 mL air bebas ion (perbandingan 50 mL H_2O /g montmorilonit). Suspensi ini kemudian diaduk dengan pengaduk magnetik selama 2 jam. Selanjutnya suspensi yang diperoleh direaksikan dengan larutan pemilar dengan menambahkan 250 mL larutan pemilar ke dalam suspensi montmorilonit (perbandingan 25 mL larutan oligomer/g montmorilonit). Kemudian suspensi yang diperoleh didiamkan selama 24 jam. Montmorilonit terinterkalasi ini kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm untuk memisahkan endapan padat dengan supernatan. Endapan ini kemudian dicuci dengan menggunakan air bebas ion hingga montmorilonit hasil pemiliran ini bebas ion Cl^- (diuji melalui tes AgNO_3). Montmorilonit bebas ion Cl^- ini dikeringkan dengan oven pada temperatur 110°C selama 24 jam. Selanjutnya montmorilonit kering ini digerus dan diayak hingga lolos saringan 250 mesh. Untuk membentuk pilar oksida alumina yang rigid, senyawa yang telah diinterkalasi kemudian dikalsinasi pada temperatur 300°C selama 5 jam dengan menggunakan aliran gas inert N_2 dengan kecepatan 20 mL/menit. Hasil yang diperoleh berupa montmorilonit terpillar Al_2O_3 yang kemudian dianalisis menggunakan metode difraksi sinar-X (XRD). Kandungan aluminium dalam bahan di analisis dengan metode Analisis Pengaktifan Neutron (APN).

Preparasi $\text{Cu-Al}_2\text{O}_3$ -montmorilonit

Ditimbang 3 g $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ yang kemudian dilarutkan dalam air bebas ion hingga volume 200 mL, sehingga diperoleh konsentrasi larutan sebesar 0,09 M. Kemudian larutan dicampur dengan 10 g Al_2O_3 -montmorilonit dan direfluk pada temperatur $\pm 70^\circ\text{C}$ dan diteruskan dengan pengadukan menggunakan pengaduk magnetik selama 24 jam. Setelah itu dilakukan pemisahan dengan sentrifugasi dan endapan yang diperoleh dicuci dengan air bebas ion hingga bersih. Hal ini dapat diketahui dengan melakukan tes AgNO_3 terhadap filtrat hingga tidak terbentuk endapan putih. Residu yang didapatkan kemudian dikeringkan di dalam oven pada temperatur 110°C selama 24 jam dan setelah itu dilakukan penggerusan dan pengayakan hingga lolos ayakan 250 mesh. Bahan ini kemudian dinamakan $\text{Cu-Al}_2\text{O}_3$ -montmorilonit. Bahan tersebut kemudian dianalisis persentase kandungan logam Cu menggunakan analisis aktivasi neutron.

Pengujian mikrobiologi (antibakteri)

Sterilisasi alat dan bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam analisis mikrobiologi terlebih dahulu disterilisasi, dimana sterilisasi yang dilakukan secara sterilisasi basah menggunakan autoclave. Autoclave diatur sedemikian rupa sehingga tekanan uap air jenuh mencapai 15 psi dengan temperatur 121°C dan dipertahankan selama 15 menit. Alat dan bahan yang disterilisasi yaitu : 200 mL akuades dalam erlenmeyer 250 mL, tabung reaksi kecil sebanyak 30 buah, media cair BHI, media agar MH, larutan NaCl fisiologis.

Pembuatan media cair BHI (Brain Heart Infusion)

Media BHI memiliki komposisi, brain infusion 200 g; beef heart Infusion 250 g; proteosea 10 g; NaCl 5 g; Na_2PO_4 2,5 g. Semua bahan ini dilarutkan di dalam akuades hingga volume 1000 mL. Larutan dijaga pada kondisi pH = 7,4. Media cair ini kemudian ditempatkan dalam tabung reaksi kecil.

Pembuatan media padat MH (Mueller Hinton)

Media MH memiliki komposisi, meat infusion 5 g; casein hydrolisate 17,5 g; amilum 1,5 g; agar-agar 12,5 g. Semua bahan ini dilarutkan di dalam akuades hingga volume 1000 mL dan pH akhir larutan 7,2-7,6. Kemudian larutan ditempatkan pada cawan petri dan didiamkan hingga memadat.

Pengkulturan bakteri *S. aureus*

Kultur murni bakteri *S. aureus* diambil dengan menggunakan ose steril. Koloni yang telah diambil menggunakan ose kemudian dilarutkan dalam tabung reaksi berisi media cair BHI sebanyak 2 mL. Selanjutnya ditumbuhkan di dalam inkubator selama 18-24 jam pada temperatur 37°C .

Subkultur bakteri *S. aureus*

Subkultur dilakukan dengan cara memipet 200 μL larutan bakteri dalam media cair BHI yang telah dikulturkan selama 18 - 24 jam, ke dalam media cair BHI baru sebanyak 2 mL. Kemudian diinkubasikan dalam inkubator temperatur 37°C selama 4 jam.

Preparasi larutan bakteri dengan konsentrasi 10^8 cfu/mL

Dipipet sekitar 100 μL larutan subkultur kedalam tabung reaksi kecil. Kemudian ditambahkan larutan NaCl fisiologis hingga warna dan kekeruhan larutan sama dengan warna dan kekeruhan larutan standar bakteri konsentrasi 10^8 cfu/mL. Diperoleh larutan bakteri *S. aureus* dengan konsentrasi 10^8 cfu/mL (*colony forming unit/millimetre*).

Uji kualitatif antibakteri Cu-Al₂O₃-montmorilonit

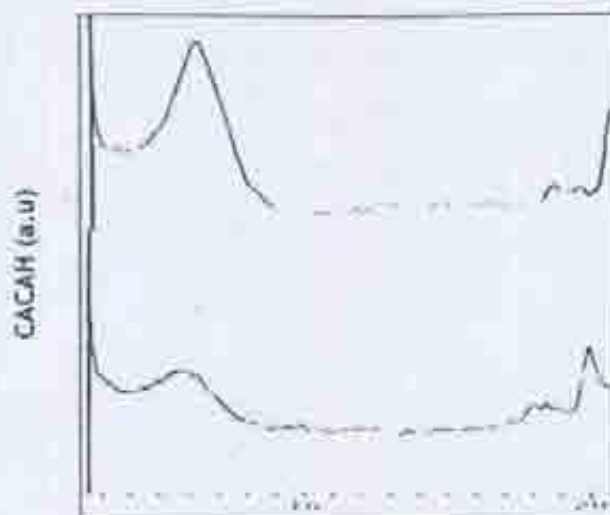
Uji kualitatif dilakukan dengan 2 metode penambahan bahan antibakteri. Metode pertama serbuk Cu-Al₂O₃-montmorilonit langsung dikontakkan dengan bakteri, dan metode kedua serbuk Cu-montmorilonit terpelar alumina dilarutkan terlebih dahulu dalam akuades dan hanya supernatannya saja yang dikontakkan dengan bakteri. Untuk metode serbuk, dipipet 20 μL larutan bakteri konsentrasi 10^8 cfu/mL ke dalam tabung reaksi kecil. Ditambahkan akuades steril hingga volume mencapai 2 mL lalu ditambahkan serbuk Cu-Al₂O₃-montmorilonit ke dalamnya sehingga diperoleh konsentrasi masing-masing 10, 20, 30, 50 dan 60 mg/mL. Larutan kemudian digojok homogen dan didiamkan selama 5, 10, 30 dan 60 menit. Pada tiap waktu pendiaman untuk masing-masing konsentrasi, diambil sedikit larutan dengan menggunakan ose lalu digoreskan ke media MH. Media MH yang telah digoreskan oleh larutan bakteri ini kemudian diinkubasikan di dalam inkubator selama 24 jam pada temperatur 37°C. Lalu diamati pertumbuhan bakteri dalam media.

Untuk penambahan secara supernatan, didispersikan serbuk Cu-Al₂O₃-montmorilonit pada konsentrasi tertentu terlebih dahulu dalam air bebas ion dan *dishaker* selama 24 jam, lalu dibuat variasi konsentrasi 10, 20, 30, 50 dan 60 mg/mL. Selanjutnya dilakukan hal yang sama dengan metode serbuk. Suspensi bakteri konsentrasi 10^8 cfu/mL dipipet 20 μL dan ditambahkan ke dalam supernatan Cu-Al₂O₃-montmorilonit pada konsentrasi tertentu hingga volume larutan mencapai 2 mL. Supernatan yang ditambahkan divariasikan sehingga diperoleh supernatan dengan konsentrasi 10, 20, 30, 50 dan 60 mg/mL. Dispersi kemudian digojok dan didiamkan selama 5, 10, 30 dan 60 menit. Pada tiap waktu pendiaman untuk masing-masing konsentrasi, diambil sedikit larutan dengan menggunakan ose lalu digoreskan ke media MH. Media MH yang telah digoreskan oleh larutan bakteri ini kemudian diinkubasikan di dalam inkubator selama 24 jam pada temperatur 37°C. Lalu diamati pertumbuhan bakteri dalam media MH. Untuk mengetahui banyaknya logam Cu yang terlepas ke dalam cairan selama kontak dengan bakteri digunakan analisis spektroskopi serapan atom.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Karakterisasi Struktur Al₂O₃-montmorilonit dengan XRD

Lempung terpelar yang telah terbentuk kemudian dianalisis menggunakan difraksi sinar X. Dari hasil analisis diperoleh hasil berupa difraktogram seperti yang tertera pada gambar 2. Dari gambar 2 terlihat adanya puncak utama pada daerah $2\theta = 6,13^\circ$ dengan harga *basal spacing* 14,39 Å yang menunjukkan ciri khas dari lempung kelompok montmorilonit.

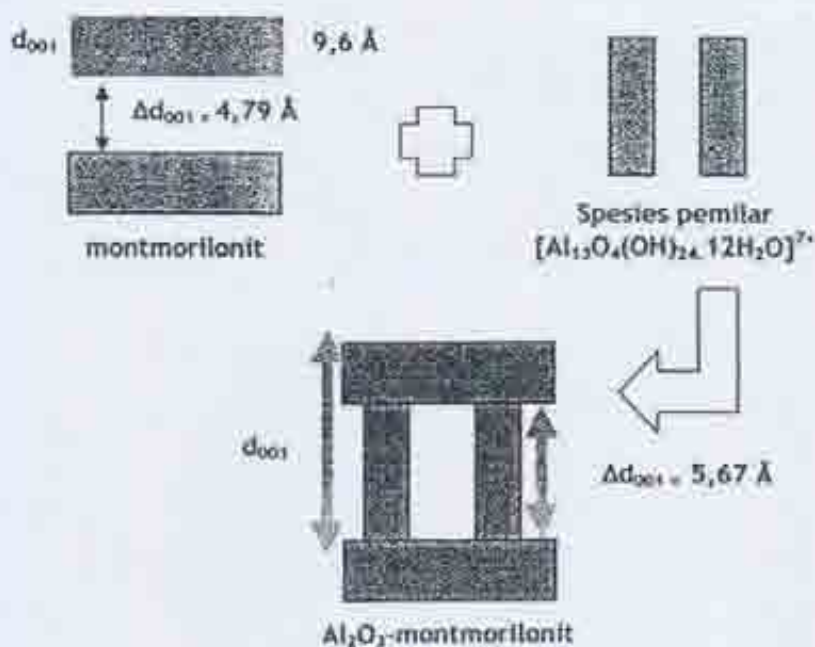


2

Gambar 2. Difraktogram Montmorilonit Alam (a) dan Difraktogram Montmorilonit Terpillar Alumina (b)

Pilarisasi pada lempung dimaksudkan untuk meningkatkan jarak antarlapis bidang 001 lempung. Mekanisme ini akan berhasil baik jika peningkatan antarlapis tidak merusak karakter *face to face* bidang yang tertata secara teratur dan berulang. Dengan demikian meskipun terdapat keberadaan struktur pilar baru dalam ruang antarlapis, namun bidang 001 tetap dapat terdeteksi melalui karakterisasi XRD.

Pilarisasi yang terjadi pada antarlapis lempung ditandai dengan adanya pergeseran puncak karakteristik montmorilonit alam $2\theta = 6,13^\circ$ ke arah harga 2θ lebih kecil (ke arah kiri). Namun dari gambar 2 terlihat bahwa puncak bidang 001 khas montmorilonit pada difraktogram montmorilonit terpillar alumina (Al_2O_3 -montmorilonit) muncul meskipun dengan intensitas yang rendah pada harga $2\theta = 5,78^\circ$ dengan harga *basal spacing* sebesar $15,27 \text{ \AA}$.



Gambar 3. Skema Pembentukan Al_2O_3 -Montmorilonit

Faktor-faktor yang menyebabkan intensitas rendah pada difraktogram di daerah ciri khas montmorilonit adalah terjadinya penurunan kristalinitas lempung akibat atom-atom pada antarlapisnya yang tidak teratur. Selain itu juga karena tinggi pilar, jarak pilar dan tebal pilar yang terbentuk pada proses pemiliran tidak seragam. Kerusakan struktur berlapis dapat pula diakibatkan oleh dehidroksilasi dan delaminasi di dalam lembar oktahedral lempung yang mengakibatkan rusaknya karakter montmorilonit. Kerusakan karakter montmorilonit ini terkait dengan pembentukan struktur rumah kartu (*house of card*) yang membentuk karakter mesopori seperti yang terlihat pada gambar 2.

Hal inilah yang menyebabkan intensitas puncak karakter montmorilonit yang rendah pada $2\theta = 6,13^\circ$ pada difraktogram Al_2O_3 -montmorilonit. Pada beberapa penelitian sebelumnya juga dijelaskan bahwa telah terjadi kehilangan puncak karakteristik montmorilonit akibat terbentuknya struktur rumah kartu (*house of card*) yang disebabkan terjadinya dehidroksilasi dan delaminasi dalam lembar oktahedral lempung. Delaminasi dan dehidroksilasi pada lembar oktahedral dapat terjadi karena efek pengasaman oleh asam kuat, proses kalsinasi atau mekanisme pilarisasi yang kurang baik (Agung, 2005).

Preparasi Cu- Al_2O_3 -montmorilonit

Bahan antibakteri Cu- Al_2O_3 -montmorilonit dibuat dengan prinsip pertukaran ion melalui metode impregnasi. Sebanyak 200 mL larutan $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ dengan konsentrasi 0,09 M dicampurkan dengan 10 g Al_2O_3 -montmorilonit kemudian direfleks pada temperatur $\pm 70^\circ C$ selama 5 jam lalu dilanjutkan pengadukan menggunakan pengaduk magnetik dengan lama pengadukan selama 24 jam. Menurut Akhadi dan Taslimah (2000), pertukaran kation akan berjalan secara optimum jika dilakukan pada temperatur $\pm 70^\circ C$ dan lama pengadukan minimal 24 jam. Pertukaran kation dilakukan dengan memperhatikan faktor-faktor yang mempengaruhinya, yaitu ukuran dan muatan ion, konsentrasi ion penukar, temperatur dan lama pertukaran.

Pada saat terjadi pertukaran kation dalam proses impregnasi, kation-kation yang dipertukarkan dengan Cu^{2+} adalah kation-kation yang tidak ikut tertukar saat terjadi pemiliran dengan ion Keggin $[Al_{13}O_4(OH)_{24}(H_2O)_{12}]^{7-}$. Setelah dilakukan pertukaran kation, selanjutnya dilakukan pencucian dengan air bebas ion. Tujuan pencucian ini adalah menghilangkan ion-ion pengotor dan ion-ion yang tidak ikut dipertukarkan dalam proses impregnasi. Selain itu juga untuk membersihkan permukaan dan ruang antarlapis lempung. Untuk mengetahui banyaknya Cu yang teremban ke dalam Al_2O_3 -montmorilonit setelah impregnasi dilakukan Analisis Pengaktifan Neutron (APN).

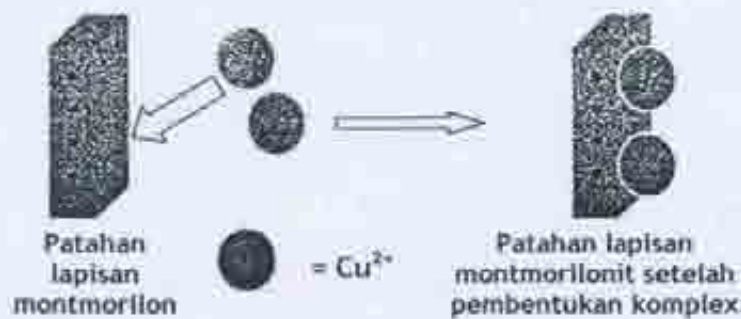
Hasil Karakterisasi Analisis Aktivasi Neutron

Setelah dilakukan penyisipan kation Cu^{2+} ke dalam Al_2O_3 -montmorilonit melalui metode impregnasi basah, kemudian kadar kandungan Cu dalam Cu- Al_2O_3 -montmorilonit dianalisis dengan metode AAN.

Tabel 1. Kandungan Al dan Cu pada Al_2O_3 -Montmorilonit dan Cu- Al_2O_3 -Montmorilonit Hasil AAN

Sampel	Konsentrasi Unsur (% b/b)	
	Unsur Al	Unsur Cu
Al_2O_3 -montmorilonit	3,72	0,01
Cu- Al_2O_3 -montmorilonit	7,45	0,69

Dari data hasil AAN pada tabel 1 diperoleh kadar Cu setelah adanya penambahan Cu ke dalam Al_2O_3 -montmorilonit sebesar 0,688% dari yang semula hanya 0,007%. Pengembangan logam Cu melalui metode impregnasi dapat terjadi melalui cara pembentukan kompleks antara gugus Si-O pada patahan lapisan montmorilonit dengan ion Cu^{2+} sehingga posisi Cu akan berada di pinggiran patahan lapisan lempung. Kemungkinan lain adalah pertukaran ion antara Cu dengan ion-ion yang terdapat pada antarlapis Al_2O_3 -montmorilonit seperti H^+ sehingga posisi Cu akan berada pada antarlapis lempung (Anonim, 1991).



Gambar 4. Pembentukan Kompleks Cu pada Patahan Lapisan Lempung

Pengujian Cu-Al₂O₃-montmorillonit sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*

Cu-Al₂O₃-montmorillonit yang dibuat melalui impregnasi logam Cu kedalam Al₂O₃-montmorillonit dengan prinsip pertukaran ion kemudian diuji aktivitas dan efektivitasnya sebagai bahan antibakteri *S. aureus* dengan menggunakan metode antibakteri desinfektan. Metode ini didasarkan pada asumsi bahwa kontak optimum untuk membunuh bakteri dengan bahan adalah dimulai dari kontak 5 menit hingga 10 menit pertama. Bahan akan memiliki sifat sebagai desinfektan jika pada kontak 5 menit belum membunuh, namun setelah kontak selama 10 menit mampu membunuh bakteri *S. aureus*. Dengan demikian kemampuan membunuh bakteri terjadi pada rentang waktu kontak antara 5-10 menit.

Kontak bahan dengan bakteri *S. aureus* divariasikan mulai konsentrasi 10, 20, 30, 50, 60 mg/mL, kemudian ditambahkan ke dalam larutan bakteri dengan konsentrasi 10⁶ cfu/mL. Konsentrasi 10⁶ cfu/mL merupakan konsentrasi rata-rata bakteri yang hidup di perairan dan di lingkungan bebas. Selain konsentrasi, dilakukan juga variasi waktu kontak mulai 5, 10, 30, dan 60 menit. Penambahan bahan ke dalam larutan bakteri dilakukan sambil digojok agar pencampuran yang terjadi homogen. Penambahan bahan dilakukan melalui 2 metode, yakni penambahan bahan dalam bentuk serbuk dan penambahan bahan dalam bentuk supernatan. Bahan yang diuji sebagai antibakteri adalah Al₂O₃-montmorillonit, Cu-Al₂O₃-montmorillonit dan larutan ion Cu²⁺ dengan kadar 0,69%. Kadar persentase ini sesuai dengan kandungan logam Cu dalam sampel Cu-Al₂O₃-montmorillonit yang dianalisis melalui metode APN. Al₂O₃-montmorillonit digunakan sebagai kontrol.

Tabel 2. Data Hasil Uji Aktivitas dan Efektivitas Antibakteri Al₂O₃-montmorillonit dengan Metode Serbuk dan Supernatan

Konsentrasi (mg/mL)	Waktu Kontak (menit) Al ₂ O ₃ -Montmorillonit Penambahan Supernatan				Waktu Kontak (menit) Al ₂ O ₃ -Montmorillonit Penambahan Serbuk			
	5	10	30	60	5	10	30	60
10	xx	xx	xx	xx	x	x	x	x
20	xx	xx	xx	xx	x	x	x	x
30	xx	xx	xx	xx	xx	x	x	x
50	xx	x	x	x	xx	x	x	x
60	xx	x	x	x	xx	xx	x	x

xx = koloni bakteri yang terbentuk banyak
 x = koloni bakteri yang terbentuk sedikit (< 10 koloni)

Dari data pada tabel 2 diperoleh hasil bahwa Al_2O_3 -montmorilonit pada seluruh konsentrasi yang divariasikan tidak memiliki kemampuan untuk membunuh seluruh bakteri *S. aureus* pada media. Fenomena yang terjadi hanyalah pengurangan jumlah koloni yang terbentuk setelah dilakukan kontak pada variasi waktu tertentu dengan bahan Al_2O_3 -montmorilonit. Penurunan jumlah koloni yang terbentuk, mungkin disebabkan oleh matinya beberapa koloni *S. aureus* karena berinteraksi dan terjebak di antara molekul-molekul Al_2O_3 -montmorilonit dan juga kemungkinan karena berinteraksi dengan ion hidronium dalam pori-pori bahan. Asumsi ini didasarkan data pada tabel, dimana penambahan secara serbuk mampu mengurangi jumlah koloni *S. aureus* yang terbentuk lebih banyak dibandingkan dengan penambahan secara supernatan.

Tabel 3. Data Hasil Uji Aktivitas dan Efektivitas Antibakteri $Cu-Al_2O_3$ -Montmorilonit dengan Penambahan secara Serbuk dan Supernatan

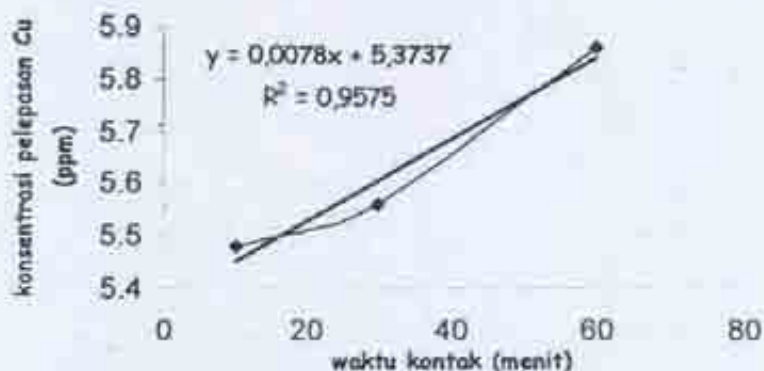
Konsentrasi (mg/mL)	Waktu Kontak (menit) $Cu-Al_2O_3$ -Montmorilonit Penambahan Serbuk				Waktu Kontak (menit) $Cu-Al_2O_3$ -Montmorilonit Penambahan Supernatan			
	5	10	30	60	5	10	30	60
10	xx	xx	xx	xx	x	x	x	x
20	xx	x	x	x	x	x	x	x
30	xx	x	x	x	x	x	x	x
50	x	-	-	-	x	-	-	-
60	-	-	-	-	x	-	-	-

xx = koloni bakteri yang terbentuk banyak
 x = koloni bakteri yang terbentuk sedikit (< 10 koloni)
 - = semua koloni telah mati

Data pada tabel 3 menggambarkan kemampuan bahan $Cu-Al_2O_3$ -montmorilonit sebagai bahan antibakteri *S. aureus*. Diperoleh hasil bahwa pada penambahan $Cu-Al_2O_3$ -montmorilonit secara serbuk pada konsentrasi 10, 20 dan 30 mg/mL belum mampu membunuh semua bakteri pada media tumbuh, hanya terjadi penurunan jumlah koloni. Hal ini didasarkan pada kurva pertumbuhan mikroorganisme, bahwa bakteri sedang berada pada fase lag/fase penyesuaian pada lingkungan baru yang menyebabkan bakteri hampir sama sekali tidak mengalami pertumbuhan dalam hal jumlah. Pada penambahan $Cu-Al_2O_3$ -montmorilonit dengan konsentrasi 50 mg/mL telah memiliki kemampuan membunuh semua bakteri *S. aureus* pada media setelah kontak selama 10 menit. Pada konsentrasi 60 mg/mL bahan $Cu-Al_2O_3$ -montmorilonit telah mampu membunuh bakteri *S. aureus* sejak kontak 5 menit. Pada konsentrasi ini, meskipun kontak baru berjalan 5 menit bakteri telah memasuki fase kematian, yang diakibatkan oleh kerusakan media tumbuh dan kehilangan nutrisi serta terjadi peningkatan akumulasi jumlah racun sisa metabolisme yang mengakibatkan penurunan jumlah sel yang tumbuh.

Hasil uji aktivitas dan efektivitas antibakteri $Cu-Al_2O_3$ -montmorilonit penambahan secara supernatan diperoleh, bahwa pada konsentrasi bahan 10, 20 dan 30 mg/mL masih belum mampu membunuh seluruh bakteri *S. aureus* pada media tumbuh. Setelah penambahan bahan pada konsentrasi 50 mg/mL dan konsentrasi 60 mg/mL terlihat telah memiliki kemampuan membunuh semua bakteri *S. aureus* dalam media setelah kontak selama 10 menit. Secara umum penambahan secara supernatan memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan penambahan secara serbuk dalam membunuh *S. aureus*. Pada penambahan $Cu-Al_2O_3$ -montmorilonit secara supernatan, kemampuan membunuh *S. aureus* dikarenakan adanya pelepasan (*leaching*) logam Cu yang terdapat pada sampel $Cu-Al_2O_3$ -montmorilonit. Supernatan ini diperoleh dari bahan $Cu-$

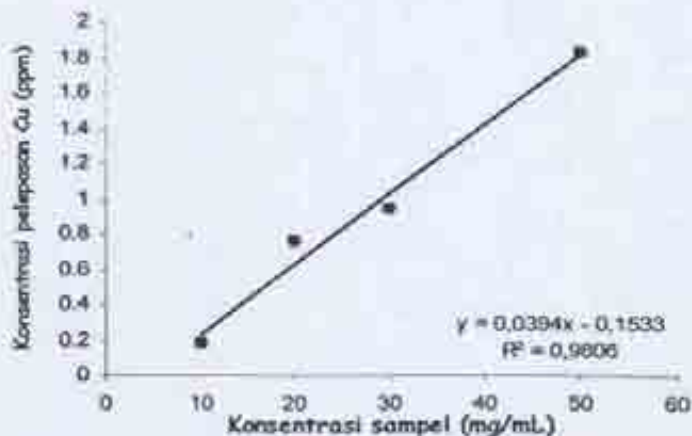
digunakan untuk membandingkan persentase logam Cu yang lepas antara bahan serbuk dan supernatan. Untuk metode serbuk diuji pada konsentrasi 50 mg/mL, karena pada konsentrasi ini Cu-Al₂O₃-montmorilonit telah mampu membunuh semua *S. aureus* pada media.



Gambar 5. Grafik Konsentrasi Pelepasan Cu dari Serbuk Cu-Al₂O₃-Montmorilonit Konsentrasi 50 mg/mL versus Waktu Kontak

Dari kurva standar Cu seperti yang tertera pada gambar 5 diperoleh persamaan garis $y = 0,0078x + 5,3737$. Konsentrasi Cu tiap variasi waktu ditentukan melalui persamaan garis kurva standar. Dengan membandingkan konsentrasi Cu dalam Cu-Al₂O₃-montmorilonit pada konsentrasi 50 mg/mL sebesar 344 ppm, diperoleh persentase pelepasan Cu pada kontak 10, 30 dan 60 menit masing-masing sebesar 1,59%, 1,62% dan 1,79%. Diperoleh rata-rata pelepasan Cu dari serbuk Cu-Al₂O₃-montmorilonit konsentrasi 50 mg/mL adalah 1,64%.

Bahan supernatan Cu-Al₂O₃-montmorilonit yang dianalisis menggunakan AAS adalah bahan dengan waktu kontak 60 menit pada variasi konsentrasi. Dari grafik 6 dapat diketahui harga persentase pelepasan Cu pada konsentrasi 10, 20, 30 dan 50 mg/mL dari supernatan Cu-Al₂O₃ 0,53%. Diperoleh rata-rata pelepasan Cu sebesar 0,45%.



Gambar 6. Grafik Konsentrasi Pelepasan Cu dari Supernatan Cu-Al₂O₃-Montmorilonit dengan Waktu Kontak 60 Menit versus Konsentrasi Cu-Al₂O₃-Montmorilonit

Kemampuan logam Cu sebagai antibakteri *S. aureus* dengan konsentrasi Cu sebesar 0,69% (sesuai dengan hasil AAN pada sampel Cu-Al₂O₃-montmorilonit), dapat dilihat dari tabel 4.

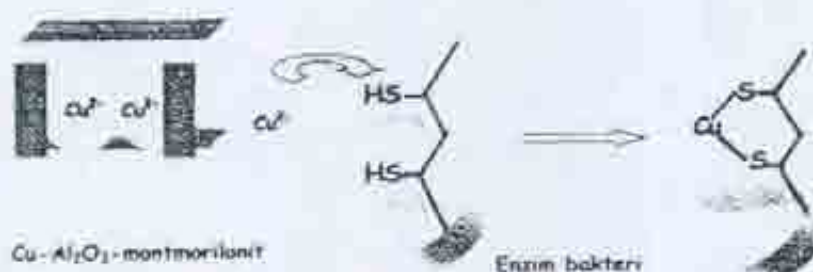
Tabel 4. Data Hasil Uji Aktivitas dan Efektivitas Antibakteri Larutan Cu^{2+} Metode Supernatan

Kadar Cu (%)	Waktu kontak (menit)			
	5	10	30	60
0,69	x	-	-	-

x = koloni bakteri yang terbentuk sedikit (<10 koloni)

- = semua koloni telah mati

Menurut Beveridge dan Ronald (1989), mekanisme yang mungkin terjadi untuk menjelaskan aksi antibakteri yaitu perangkap pori-pori $\text{Cu-Al}_2\text{O}_3$ -montmorilonit dan *slow release agent*. Penjelasan pertama mengenai perangkap pori yaitu bakteri memasuki pori-pori $\text{Cu-Al}_2\text{O}_3$ -montmorilonit, kemudian berinteraksi dengan kation Cu^{2+} pada antarlapis Al_2O_3 -montmorilonit yang bersifat toksik terhadap bakteri dan beraksi sebagai antibakteri yang menyebabkan bakteri terbunuh. *Slow release agent* adalah bahan yang dapat melepaskan kation yang terikat secara sedikit demi sedikit. Bahan $\text{Cu-Al}_2\text{O}_3$ -montmorilonit berperan sebagai *slow release agent* yang kemudian melepaskan kation Cu^{2+} yang terikat secara sedikit demi sedikit ke dalam larutan, kemudian kation Cu^{2+} tersebut berinteraksi dengan bagian-bagian penyusun sel bakteri yang di antaranya membran sel, protein protoplasma sel dan enzim seluler bakteri.



Gambar 7. Mekanisme Aksi Penyerangan Antibakteri Cu-Montmorilonit Terpilair Alumina sebagai *Slow Release Agent*

Dari gambar 7 terlihat salah satu mekanisme aksi antibakteri yang telah banyak diketahui yakni mekanisme bahan sebagai *slow release agent*, dimana bahan Cu -montmorilonit terpilair alumina secara sedikit demi sedikit melepaskan logam Cu^{2+} . Logam Cu^{2+} yang terlepas kemudian berinteraksi dengan gugus $-\text{SH}$ pada enzim bakteri. Setelah itu atom hidrogen akan terlepas dan tergantikan oleh atom Cu . Hal ini berakibat gugus fungsional yang esensial pada molekul biologis akan terhalang, sehingga menghambat aktivitas biokimia dari enzim yang pada akhirnya menghambat pertumbuhan dan reproduksi bakteri. Hal inilah yang menyebabkan matinya bakteri. Mekanisme ini paling mungkin terjadi dibandingkan mekanisme perangkap pori, karena ukuran bakteri *S. aureus* berdiameter 1 mikrometer (μm) tidak memungkinkan bakteri ini terperangkap pada antarlapis pilar.

KESIMPULAN

Dari uraian yang disampaikan pada bab sebelumnya, dapat ditarik beberapa kesimpulan sebagai berikut :

1. Impregnasi logam Cu terhadap montmorilonit terpilair alumina menghasilkan bahan $\text{Cu-Al}_2\text{O}_3$ -montmorilonit dengan kadar Cu sebesar 0,69%.
2. Penambahan bahan $\text{Cu-Al}_2\text{O}_3$ -montmorilonit secara serbuk efektif membunuh seluruh bakteri *S. aureus* pada media tumbuh pada konsentrasi 50 mg/mL setelah waktu kontak 10 menit, dan konsentrasi 60 mg/mL (mengandung sekitar 0.414 mg Cu/mL) setelah waktu kontak 5 menit.

3. Penambahan bahan Cu-Al₂O₃-montmorilonit secara supernatan efektif membunuh seluruh bakteri *S. aureus* pada media tumbuh setelah kontak selama 10 menit, untuk konsentrasi 50 mg/mL dan konsentrasi 60 mg/mL.
4. Dari hasil analisis spektroskopi serapan atom diperoleh bahwa rata-rata pelepasan logam Cu dari bahan Cu-Al₂O₃-montmorilonit dengan penambahan secara serbuk sebesar 1,64% dan penambahan secara supernatan sebesar 0,45%.
5. Penambahan bahan Cu-Al₂O₃-montmorilonit baik secara serbuk maupun secara supernatan, tidak memberikan hasil yang jauh berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhadi, Y.P. dan Taslimah, R.H. 2000 Adsorpsi Kadmium oleh Bentonit Alami dan Bentonit Natrium sebagai Penukar Ion. *J. Nas Kim. Fis.* 2(B). 51-53
- Anonim. 1991. *Kimia Tanah*. Jakarta : Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Dep. Pendidikan & Kebudayaan. 127-136
- Anonim. 1996. *Guidelines for Drinking Water Quality*. Geneva : World Health Organization. vol 2.
- Agung, A.A.J. 2005. *Preparasi Nanokomposit Lempung-Silika Menggunakan Surfaktan Dodesilamin dan Aplikasinya Sebagai Adsorben Pada Proses Penjernihan Minyak Daun Cengkeh*. Skripsi. FMIPA UGM. Yogyakarta
- Beveridge, T.J. dan Ronald, J.D. 1989. *Metals Ion and Bacteria*. New York : John Willey & Sons Inc.
- Brindley, G.W. dan Sempels, R.E. 1977. An Infrared Emission Spectroscopy Study of Thermal transformation Mechanism in Al₁₂ Pillared Clay Catalyst. *J. Clay Mineral.* 12. 229-232
- Cool, P. dan Vansant, E.F. 1998. Pillared Clays : Preparation, Characterization and Applications. *Catal. Rev. Sci. Eng.* 3. 265-285
- Gazra, R.M. Olguin, M.T. Garcia, S. Alcantara, D. dan Rodriguez F.G. 2000. Silver Suported on Natural Mexican Zeolite As an Antibacterial. *J. Micro. and Mesop. Mater.* 39. 431-444
- Millot, G.M. 1970. *Geology of Clay*. 1st ed. London : Chapman and Mail Inc.
- Salle, A.J. 1954. *Fundamental Principles of Bacteriology*. New York : McGraw Hill Book Company Inc.
- Vaughan, D.E.W. dan Lussier R. 1979. US Patent 4176090
- Van Olphen, H dan Pripiat, J.J. 1979. *Data Handbook for Clay Minerals and other Non-Metallic Materials*. Oxford : Pergamon.