

# PENGARUH PENAMBAHAN KITOSAN SEBAGAI AGEN ANTI-MIKROBIAL DALAM PEMBUATAN MEMBRAN *CELLULOSE ACETATE* TERHADAP *BIOFOULING* OLEH BAKTERI GRAM NEGATIF

Deviannisa Nurlaeli<sup>1</sup>, Heru Susanto<sup>2</sup>, Sudarno<sup>1</sup>

1) Jurusan Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro

2) Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro

## ABSTRAK

*Biofouling is the undesirable bacteria build up on a membrane surface, and has been a major problem in the application of membrane technology in water and wastewater treatment. In this study, cellulose acetate was made with addition of various concentration of chitosan. The purpose of modifications was to make an antibacterial membrane which able to decrease biofouling on membran surface caused by gram-negative bacteria. The modified membranes were then examined for 2 kinds of test, first is membrane characterization test which include permeability test, FTIR, and SEM, second is antibacterial test. The antibacterial activities of chitosan against E. coli were determined by using inhibition zone method. The results indicate that chitosan is able to inhibit growth number of bacteria on the membrane surface but doesn't effective to use as an antibacterial for membrane due to weakness of antibacterial activity. From those various concentration, addition of 0,5% chitosan was the best compositon to inhibit the growth of bacteria.*

*Key Words: Cellulose Acetate, Chitosan, Bio Fouling, Antimicrobial*

## I. PENDAHULUAN

Teknologi membran merupakan salah satu bentuk teknologi filtrasi yang tengah ramai dibicarakan saat ini. Hal ini dikarenakan teknologi membran memiliki keunggulan-keunggulan yang tidak dimiliki oleh teknologi filtrasi lainnya.

Namun, dibalik keunggulannya, terdapat salah satu masalah utama dalam pengoprasian membran, yaitu *biofouling*. *Biofouling* diakibatkan oleh penempelan satu atau lebih bakteri pada permukaan membran yang diikuti dengan pertumbuhan dan perkembangan sel yang meluas karena nutrisi yang ada pada air umpan

Oleh karena itu, telah banyak dilakukan penelitian mengenai cara mengatasi *biofouling* pada membran ini. Basri *et. al.* (2010) pada penelitiannya mengemukakan bahwa penambahan additif pada permukaan membran mampu untuk mengatasi

permalahan *biofouling* yang disebabkan oleh bakteri.

Kitosan merupakan senyawa biopolimer turunan kitin yang murah, tidak beracun, mempunyai sifat hidrofilik, mempunyai kemampuan adhesi yang baik, dll (Han *et. al.* 2010). Selain itu, kitosan juga banyak digunakan sebagai antimikroba karena kandungan gugus amina ( $\text{NH}_3^+$ ) yang mampu berinteraksi dengan muatan negatif pada bakteri (Ma, *et. al.* 2008). Berbagai penelitian mengenai kitosan telah banyak dikembangkan dan mendapatkan hasil yang memuaskan. Pembuatan membran selulosa aasetat dengan penambahan kitosan diharapkan bisa menjadi salah satu penyelesaian masalah *biofouling* pada membran.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh dari penambahan kitosan dalam mengurangi *biofouling* pada

membran selulosa asetat dan untuk menganalisis komposisi terbaik campuran selulosa asetat dan kitosan dalam mencegah *biofouling*. Serta untuk mengkaji pengaruh metode pembuatan membran dalam pengurangan penempelan bakteri pada membran.

Dalam penelitian ini, kitosan ditambahkan dalam pembuatan membran selulosa asetat melalui 2 metode yaitu *blending* dan *coating*.

## II. METODOLOGI PENELITIAN

### 2.1 Bahan

Selulosa asetat sebagai bahan utama pembuatan membran dibeli dari Aldrich Chemistry, USA. Kitosan ( $C_6H_{11}NO_4$ )<sub>n</sub>, diproduksi oleh Biotect Surendo. Kultur bakteri *E. coli* didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Diponegoro. Uji antimikroba dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro.

### 2.2 Pembuatan membran

#### 2.2.1 Membran Blending

Selulosa asetat sebanyak 12 gram dicampurkan dengan variasi kitosan sebanyak 0,1 gr, 0,5gr, dan 1gr. Kemudian dilarutkan dalam asam asetat 70% hingga mencapai 100 mL. Campuran larutan yang disebut dengan larutan *dope*, kemudian diaduk menggunakan magnetic stirer hingga larutan menjadi homogen. 10 mL larutan *dope* dicetak menggunakan casting machine kemudian direndam dalam aquadest selama 30 menit untuk menghilangkan asam. Setelah itu direndam dalam aquadest selama  $\pm 24$  jam, diangkat, dan dikeringkan pada suhu ruang selama  $\pm 24$  jam.

#### 2.2.2 Membran Coating

Membran selulosa asetat tanpa tambahan kitosan dilewatkan pada larutan kitosan

konsentrasi 0,1%, 0,5%, dan 1%. Kemudian dikeringkan pada suhu ruang selama  $\pm 5$  jam.

### 2.3 Karakterisasi membran

Untuk menentukan kinerja membran sebagai filter, digunakan uji permeabilitas untuk mengukur nilai fluks. fluks didefinisikan sebagai jumlah volume permeat yang melewati membran per satuan luas permukaan per satuan waktu ( $L/m^2 \cdot jam$ ). Uji fluks dilakukan dengan menggunakan sel amicon. Untuk meneliti interaksi antara selulosa asetat dan kitosan, dilakukan tes FTIR untuk memperoleh panjang gelombang dari masing-masing senyawa menggunakan instrument Fourier-Transform. Scanning Electron Microscope (SEM) dilakukan untuk mengamati morfologi permukaan membran. Sampel membran dikeringkan pada suhu ruang, kemudian ditempelkan pada sampel pendukung dan dilapisi oleh lapisan emas.

### 2.4 Uji Antimikroba

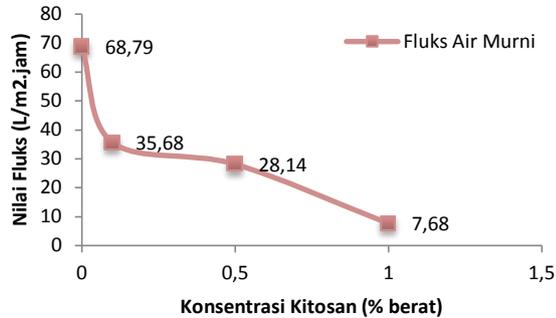
Uji antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode zona hambat (*inhibition zone*). Dalam pengujiannya, semua sampel membran *blending* dan membran *coating* dipotong dengan diameter  $\pm 8$  mm kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu  $121^\circ C$  dan tekanan 2 atm. Membran yang telah disterilkan kemudian di letakkan di permukaan kultur bakteri *E. coli* pada media NA (*Nutrient Agar*) dan diinkubasi pada suhu  $37^\circ C$  selama  $\pm 24$  jam. Zona bening yang terbentuk di sekitar membran dicatat sebagai indicator adanya aktivitas antimikroba.

## III. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Uji permeabilitas membran

Secara umum, terjadi penurunan nilai fluks membran seiring dengan semakin tinggi nilai konsentrasi kitosan yang ditambahkan. Seperti yang ditunjukkan pada gambar 1, nilai

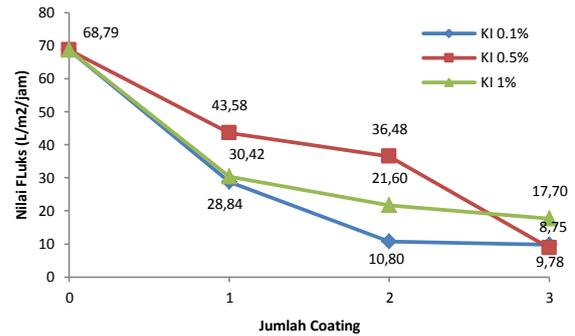
fluks tertinggi berada pada membran tanpa kitosan (Ki 0%) yaitu sebesar 68,79 L/m<sup>2</sup>.jam dan nilai fluks terendah adalah membran kitosan 1% sebesar 5,70 L/m<sup>2</sup>.jam.



Gambar 1 Grafik Uji Fluks Air Murni Membran Blending

Penurunan fluks pada penambahan kitosan awal yaitu konsentrasi 0,1% mungkin terjadi akibat adanya penyumbatan yang diakibatkan oleh partikel kitosan sehingga menyebabkan terjadinya penurunan performa membran. Hal ini diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh Rahimpour *et. al.* (2011) mengenai penyumbatan oleh additif pada membran yang bisa menyebabkan terjadinya penurunan performa membran.

Penurunan nilai fluks yang terjadi disebabkan karena sifat perubahan sifat membran akibat adanya penambahan kitosan, Selulosa asetat memiliki sifat yang lebih hidrofilik dibandingkan dengan kitosan (C. Liu and R. Bai, 2005). Sehingga hal inilah yang bisa menyebabkan turunnya fluks pada membran



Gambar 2 Hasil Uji Fluks Air Murni Membran Coating

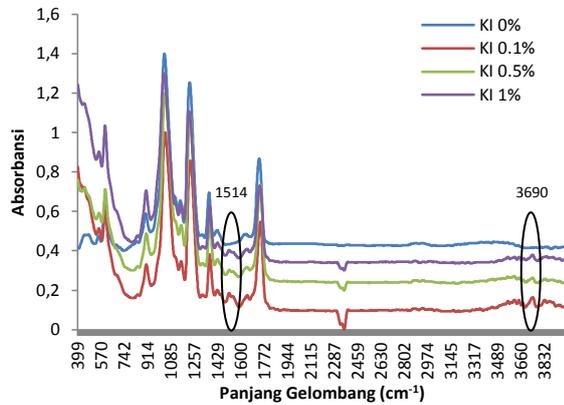
Gambar 2 menunjukkan bahwa bahwa secara umum, nilai fluks membran *coating* semakin menurun seiring dengan ditambahkannya jumlah *coating*. Penurunan nilai fluks paling banyak terjadi pada membran *coating* Ki 0.5% yaitu sebanyak 80%, kemudian membran *coating* Ki 0.1% sebanyak 66% dan membran *coating* Ki 1% sebanyak 42%. Sedangkan untuk nilai fluks paling tinggi dan paling rendah adalah pada membran *coating* Ki 0.5% yaitu sebanyak 43.58 L/m<sup>2</sup>.jam dan 8.75 L/m<sup>2</sup>.jam.

Penurunan nilai fluks pada membran *coating* ini disebabkan karena adanya penambahan kitosan di permukaan membran. Menurut penelitian C. Liu dan R. Bai (2005) diketahui bahwa penurunan fluks pada membran selulosa asetat-kitosan bisa disebabkan karena berubahnya sifat membran yang hidrofilik. Hal ini terjadi karena kitosan memiliki sifat hidrofilik yang lebih rendah dibandingkan dengan selulosa asetat..

Jika dilihat secara umum, nilai fluks pada membran *coating* lebih besar dibandingkan dengan nilai fluks membran *blending*. Perbedaan nilai fluks ini kemungkinan terjadi karena tidak adanya penyumbatan pori (*pore blocking*) pada membran *coating*. Karena penambahan kitosan pada membran *coating* hanya dilakukan pada permukaan membran saja. Hal ini diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh Mollahoseini *et. al* (2012) yang menyatakan bahwa

penyumbatan pori lebih mempunyai pengaruh dalam penurunan performa membran dibandingkan dengan hidrofilisitas membran.

### 3.2 Fourier Transform Infrared (FTIR)



Gambar 3 Hasil Uji Spektro Infrared Membran Blending

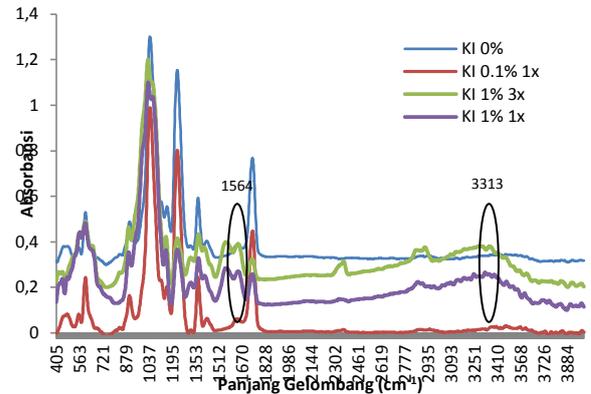
Spektra FTIR dari campuran selulosa asetat-kitosan ditunjukkan pada gambar 3 untuk menjelaskan interaksi antara kitosan dan selulosa asetat. Untuk mengetahui gugus fungsi dari masing-masing senyawa, harus diketahui dulu struktur penyusun dari masing-masing senyawa.

Ikatan NH merupakan ciri khas dari adanya ikatan kitosan. Dari hasil pengukuran FTIR, dapat dilihat bahwa terbentuk sebuah peak baru pada panjang gelombang sekitar 1514 cm<sup>-1</sup>. Peak ini menunjukkan keberadaan dari amida I (N-H) (Li, *et. al.* 2010). Selain itu, menurut Fessenden (1986) bila terdapat dua hydrogen pada suatu nitrogen amina amina (-NH<sub>2</sub>), adsorpsi NH Nampak sebagai *peak* kembar.

Sedangkan, pada peak di panjang gelombang sekitar 3687-3793 cm<sup>-1</sup> tampak adanya peak baru, peak tersebut menunjukkan adanya ikatan hidroksil (OH). Menurut Fessenden (1986) dijelaskan bahwa adsorpsi uluran OH berada pada panjang gelombang 3000-3700 cm<sup>-1</sup>.

Dari gambar 3 juga dapat dilihat bahwa terdapat *peak* yang mengarah kebawah. Peak

ini tidak menandakan adanya suatu ikatan, namun diakibatkan dari adanya bisingan (*noise*) elektronik. (Fessenden, 1986)



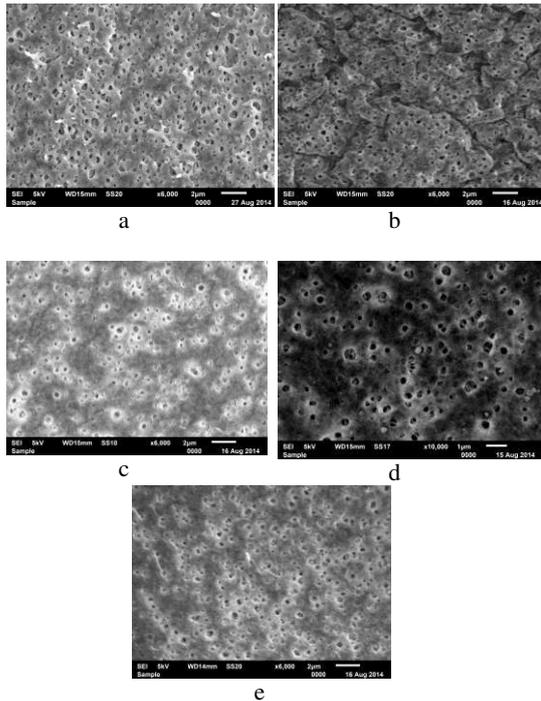
Gambar 4 Hasil Uji Spektro Infrared Membran Coating

Gambar 4 menunjukkan hasil data pengukuran FTIR, didapatkan bahwa terdapat ikatan amida II (N-H) pada panjang gelombang sekitar 1564 cm<sup>-1</sup> (Sun *et. al.* 2011). Sedangkan *peak* yang terbentuk pada panjang gelombang sekitar 3313 cm<sup>-1</sup> merupakan ikatan hydrogen (OH) (Kumar *et.al*, 2009).

Selain itu, hasil FTIR menunjukkan bahwa membran dengan penambahan kitosan mempunyai ikatan yang hampir sama dengan membran selulosa asetat murni, hal ini bisa diakibatkan karena jumlah konsentrasi kitosan yang ditambahkan sangat sedikit (C. Liu, R. Bai, 2005).

### 3.3 Scanning Electron Microscope (SEM)

Hasil uji SEM menunjukkan membran yang dibuat dari selulosa asetat dengan kitosan secara umum menghasilkan membran yang berpori cukup baik. Dengan penambahan kitosan, dapat terlihat bahwa membran dengan penambahan kitosan mempunyai pori yang lebih banyak dibandingkan dengan membran selulosa asetat murni. (Gambar 5)



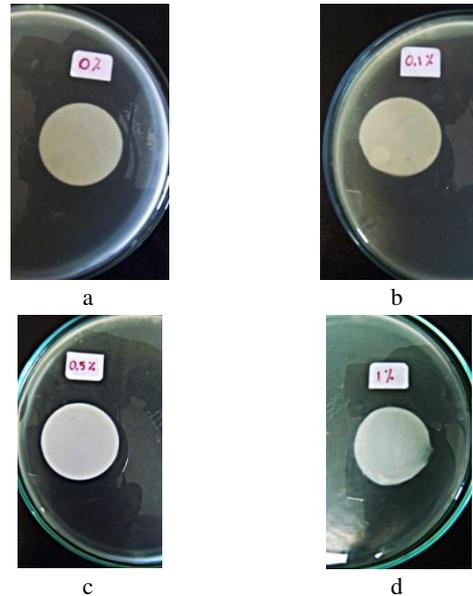
Gambar 5 Hasil SEM membran *blending* (a) CS 0% (b) CA/CS 1% (c) CA/CS 0.1% -1x (d) CA/CS 1% -1x (e) CA/CS 1% -3x

Penambahan konsentrasi kitosan dalam pembuatan membran mempunyai pengaruh pada pembentukan pori membran. Membran dengan konsentrasi kitosan yang lebih banyak mempunyai jumlah pori yang lebih banyak pula. Pengaruh dari penambahan additif pada pembentukan pori juga pernah diteliti oleh Liu *et. al.* (2010) dan menunjukkan hasil yang sama yaitu semakin banyak modifikasi yang dilakukan pada membran akan mempengaruhi besar kecilnya pori yang terbentuk pada permukaan membran.

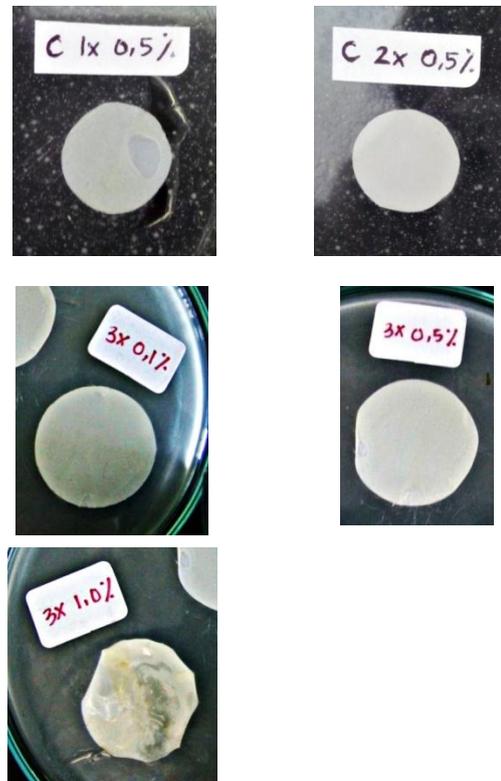
Dari gambar 5 juga tampak bahwa sebaran pori pada membran *blending* lebih merata dibandingkan dengan membran *coating*. Hal ini terjadi proses solidifikasi pada membran. Pada saat terjadinya proses solidifikasi ini, terjadi interaksi antara aditif, pelarut, polimer dan air pada bak koagulasi. (Widayanti, 2013).

### 3.4 Uji antibakteri

Gambar 4 menunjukkan fotografi dari uji antibakteri. Pengamatan terhadap membran dilakukan untuk membran *coating* dan membran *blending*. Pengaruh dari penambahan kitosan kepada membran secara umum menunjukkan zona hambat yang kecil,



Gambar 6 Hasil Uji Antibakteri Membran *Blending* (a) CS 0% (b) CS 0.1% (c) CS 0.5% (d) CS 1%

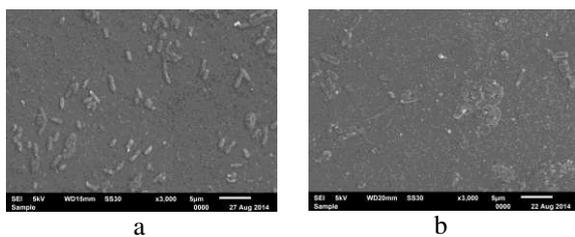


Gambar 7 Hasil Uji Antibakteri Membran *Coating*

Dari gambar 7 dan 8 bisa dilihat bahwa zona bening yang terbentuk dari seluruh membran tidak begitu terlihat. Hal ini mengindikasikan bahwa antibakteri kitosan di dalam kitosan tidak begitu kuat. Namun, jika dilihat secara lebih jelas, pada membran *blending* 0,5% terbentuk zona bening, sehingga bisa diindikasikan bahwa kitosan mampu menjadi antibakteri. Beberapa studi menunjukkan bahwa penambahan kitosan sebagai antibakteri pada membran kurang efektif (Liu *et. al.*, 2010 ; Ma, *et.al.*, 2008).

Menurut Sudharsan *et. al.* (1992) penambahan konsentrasi kitosan tidak berbanding lurus dengan penambahan konsentrasi kitosan. Dari pengamatan mikroskopis yang dilakukan, konsentrasi kitosan yang lebih rendah mampu membuat bakteri menggumpal dibandingkan dengan kitosan dengan konsentrasi yang lebih tinggi. Penggumpalan ini terjadi akibat adanya interaksi elektrostatis antara muatan positif pada kitosan dan muatan negatif pada bakteri.

Berikut adalah hasil uji SEM bakteri dari permukaan membran tanpa kitosan dan membran dengan penambahan kitosan 0,5%.



**Gambar 8 Hasil Uji SEM bakteri (a) Membran CS 0% (b) Membran CS 0.5%**

Dari gambar 8 dapat dilihat bahwa pada membran dengan penambahan kitosan, bakteri menjadi seperti berkumpul. Berkumpulnya bakteri ini bisa menyebabkan terjadinya kekurangan nutrisi dan kekurangan oksigen sehingga menyebabkan bakteri mati. (Benhabiles *et. al.*, 2012).

Selain penumpukan bakteri, dalam beberapa studi yang dilakukan, mekanisme yang terjadi adalah karena adanya interaksi antara ion positif pada kitosan ( $\text{NH}_3^+$ ) dan ion negatif (LPS) pada permukaan dinding sel bakteri, yang akhirnya menyebabkan permeabilitas membran sel berubah. (Liu, *et. al.* 2010) dan menyebabkan terhambatnya transportasi nutrisi yang akhirnya bisa mengakibatkan lisis (pecahnya sel). (Kara, *et. al.* 2014)

#### IV. KESIMPULAN

Dari penelitian yang dilakukan, Penambahan kitosan dalam pembuatan membran selulosa asetat mampu untuk mengurangi pertumbuhan bakteri, namun kitosan kurang efektif untuk diaplikasikan sebagai antibakteri pada membran selulosa asetat. Sedangkan konsentrasi kitosan yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah konsentrasi kitosan 0,5%. Metode *blending* merupakan metode yang paling efektif dibandingkan dengan metode *coating* untuk mengurangi penempelan bakteri pada permukaan membran.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Basri, H., Ismail, A. F., Aziz, M., Nagai K., Matsuura, T., Abdullah, M.S., and Ng, B.C. 2010. Silver-Filled Polyethersulfone Membranes for Antibacterial Applications – Effect of PVP and TAP Addition on Silver Dispersion. *Desalination*. Vol 261 : 264-271.
- Benhabiles, M. S., Salah, R., Lounici., Drouiche, N., Goosen, M. F. A., and Mameri, N. 2012. Antibacterial Activity of Chitin, Chitosan, and Its Oligomers Prepared from Shrimp Shell Waste. *Food Hydrocolloids*. Vol 29 : 48-56
- Fessenden, Ralph, J. 1986. *Kimia Organik Jilid I*. Erlangga. Jakarta.
- Han, Yang-Su., Lee, Sang-Hoon., Choi, Kyung Ho., and Park, In. 2010. Preparation and Characterization of Chitosan-Clay Nanocomposite with Antimicrobial Activity. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*. Vol : 71 : 464-467
- Kara, Filiz., Aksoy, Eda Ayse., Yuksekdog, Zehranur., Hasirci, Nesrin., and Aksoy, Serpil. 2014. Synthesis and Surface Modification of Polyurethanes with

- Chitosan for Antibacterial Properties. *Carbohydrate Polymers*. Vol 112 : 30-47
- Kumar, Rajesha., Isloor, Arun, M., Ismail, A. F., and Matsuura. 2013. Synthesis and Characterization of Novel Water Soluble Derivative of Chitosan as an Additive for Polysulfone Ultrafiltration Membrane. *Journal of Membrane Science*. Vol 440 : 140-147.
- Li, Xiao-fang., Feng, Xiao-qiang., Yang, Sheng., Fu, Guo-qing., Wang, Ting-pu., and Su, Zhong-xing. 2010. Chitosan kills *Escherichia coli* through damage to be of cell membrane mechanism. *Carbohydrate Polymers*. Vol 79 : 493-499.
- Liu, Chunxiu., and Bai, Renbi. 2005. Preparing Highly Porous Chitosan/cellulose Acetate Blend Hollow Fibers as Adsorptive Membranes : Effect of Polymer Concentrations and Coagulant Compositions. *Journal of Membrane Science*. Vol 279 : 336-346.
- Liu, C. X., Zhang, D. R., He, Yi., Zhao, X. S., and Bai, Renbi. 2010. Modification of membrane surface for anti-biofouling performance : Effect of anti-adhesion and anti-bacteria approaches. *Journal of Membrane Science*. Vol 346 : 121-130.
- Ma, Yunli., Zhou, Tao., and Zhao Changseng. 2008. Preparation of Chitosan-Nylon-6 Blended Membranes Containing Silver Ions as Antibacterial Materials. *Carbohydrate Research*. Vol. 343 : 230-237
- Mollahosseini, Arash., Rahimpour, Ahmad., Jahamshahi, Mohsen., Peyravi, Majid., and Khavarpour, Maryam. 2012. The Effect of Silver Nanoparticle Size on performance and Antibacteriality of Polysulfone Ultrafiltration Membrane. *Desalination*. Vol 306 : 41-50
- Rahimpour, Ahmad., Jahamshahi, Mohsen., Rajaeian, Babak., and Rahimnejad, Mostafa. 2011. TiO<sub>2</sub> Entrapped Nano-Composite PVDF/SPES membranes : Preparation, Characterization, Antifouling, and Antibacterial Properties. *Desalination*. Vol 278 : 343-353.
- Sudharsan, N.R., Hoover, D.G., and Knorr, D. 1992. Antibacterial action of Chitosan. *Food Biotechnology*. 6:3, 257-272.
- Sun, Yan., Liu, Yong., Li, Yongzhen., Lv, Mingzhe., Li, Puwang., Xu, Hanglong., and Wang, Lei. 2011. Preparation and Characterization of Novel Curdlan/Chitosan Blending Membranes for Antibacterial Applications. *Carbohydrate Polymers*. Vol 84 : 952-959
- Widayanti, Nanda. 2013. *Karakterisasi Membran Selulosa Asetat Dengan Variasi Komposisi Pelarut Aseton dan Asam Format*. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.