

STUDI AKTIVITAS ANTIMIKROB HIDROGEL KITOSAN-PVP-ALGINAT SEMI-IPN (*INTERPENETRATING POLYMER NETWORK*)

Kartini Afriani^{1,*}, Tri Sutanti Budikania¹

¹Politeknik AKA Bogor, Jl. Pangeran Sogiri No.283, Tanah Baru, Bogor Utara, Jawa Barat, Indonesia

* Korespondensi.Tel: +62-2518650351 E-mail: kartini-a@kemenperin.go.id

ABSTRAK

Hidrogel kitosan-poli-vinilpirolidon-alginat (CS/PVP/Alg) telah dapat disintesis dengan menggunakan Ca^{2+} , Zn^{2+} dan formaldehida sebagai agen pengikat silang (*crosslinker*). Hidrogel yang terbentuk diuji aktivitasnya sebagai antimikrob yaitu sebagai antibakteri dan anti jamur dengan metode difusi agar. Hidrogel CS/PVP/Alg memiliki aktivitas antimikrob terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan jamur *Aspergillus plapus*. Untuk hidrogel dengan pengikat silang Ca^{2+} juga memberikan aktivitas antimikrob terhadap *Escherichia coli* sedangkan hidrogel dengan pengikat silang formaldehid hanya memberikat aktivitas antijamur terhadap *Aspergillus plapus*.

Kata Kunci: kitosan, poli vinilpirolidon, alginat, aktivitas antimikrob.

ABSTRACT

Hydrogels chitosan-poly-(N-vinyl-pyrrolidone)-alginate (CS-PVP-Palg) have been synthesized using interpenetrating polymer network (IPN) with Ca^{2+} , Zn^{2+} and formaldehyde as crosslinker. The hydrogels formed are then examined their antimicrobial activities as antibacterial and antifungal agents using agar diffusion method. The results demonstrate that hydrogels CS/PVP/Palg could possess antimicrobial activity against *Bacillus subtilis* and *Aspergillus plapus*. Hydrogels CS/PVP/Palg crosslinked Ca^{2+} might also have antimicrobial potential against *Escherichia coli*, whereas hydrogels with formaldehyde as crosslinker only exhibit antimicrobial activity against *Aspergillus plapus*.

Keywords : chitosan, poly-(N-vinyl-pyrrolidone), alginate, antimicrobial activity

PENDAHULUAN

Hidrogel merupakan suatu jaringan rantai polimer hidrofilik yang saling terikat silang satu sama lain dan memiliki kemampuan mengabsorpsi air maupun cairan biologis dari sepuluh persen sampai seribu kali berat keringnya (Sadeghi, M., 2011). Kemampuan absorpsi hidrogel terkait dengan adanya gugus fungsi hidrofilik pada hidrogel. Gugus fungsi hidrofilik yang umum terdapat pada hidrogel diantaranya adalah: $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{CONH}_2$, dan $-\text{SO}_3\text{H}$.

Gugus fungsi tersebut dapat menyerap air tanpa larut (Hamidi, M., *et al*, 2008).

Kitosan merupakan produk deasetilasi dari kitin, sekitar 70% atau lebih gugus asetil (CH_3CO) dihilangkan dari kitin. Penghilangan gugus asetil dengan NaOH dari kitin menghasilkan pembentukan D-glukosamin (terdiri dari gugus amina bebas) yang dapat meningkatkan kelarutan, sehingga kitosan banyak digunakan dalam berbagai aplikasi

seperti pada industri pangan, farmasi, kosmetika, koagulan, pengkelat dan pengental emulsi (Sugita, dkk 2009). Kitosan dapat membentuk hidrogel melalui ikatan silang dengan suatu homopolimer atau kopolimer membentuk jaringan polimer hidrofilik tiga dimensi.

Alginat merupakan biopolimer yang mengandung β -D asam manuronat dan α -L-guluronat. Alginat diperoleh dari rumput laut atau alga coklat seperti *Sargassum* sp., *Turbinaria* sp. *laminaria hyperbore*, *macrocystis pyrifera*, dan *laminaria digitata*. Alginat banyak diaplikasikan di berbagai industri pangan dan non pangan seperti penstabil emulsi es krim, agen pensuspensi susu coklat, pengatur viskositas pada yoghurt, agen pengental *textile printing*, pengontrol penetrasi dan stabilisasi lem, dan lain-lain. Struktur α -L-guluronat mudah berikatan dengan ion bervalensi dua atau lebih, sehingga dapat membentuk ikatan silang dengan ion logam, seperti Ca^{2+} .

IPN merupakan gabungan dua polimer atau lebih yang saling terikat silang dimana salah satu jaringan terikat silang dengan adanya polimer lainnya. Melalui kombinasi dua atau lebih polimer dengan karakteristik yang berbeda maka dapat diperoleh suatu jaringan dengan karakteristik baru yang tidak ditemukan dari masing-masing polimer jika berdiri sendiri.

Pengembangan IPN menjadi menarik karena ketersediaan ruang bervolume bebas yang memudahkan proses enkapsulasi suatu bahan/obat ke dalam struktur jaringan tiga dimensi.

Pada penelitian ini hidrogel kitosan-PVP-Alginat akan diuji antimikrob untuk mengetahui kemampuan hidrogel dalam menghambat bakteri dan jamur.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan meliputi : kitosan, poli-N-vinil pirolidon (PVP), Na-Alginat, formaldehida, $ZnCl_2$, $CaCl_2$, asam asetat glasial, akuades, bahan media Mueller Hinton Agar, media *potato dextrose agar* (PDA) dan media *nutrient agar* (NA), media *nutrient broth* (NB), bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*, jamur *Aspergillus niger* dan *Aspergillus plapus*, amoxillin dan ketoconazole serta kertas cakram.

Peralatan

Alat yang digunakan meliputi : gelas piala, stirrer, *laminar air flow*, otoklaf, neraca analitik, pemanas listrik, oven, penangas air, vortex, pipet mikro dan tip, tabung reaksi, cawan petri, labu Erlenmeyer dan alat gelas lainnya.

Metode Penelitian

Pembuatan Hidrogel CS/PVP/Alg semi-IPN

Pembuatan hidrogel kitosan/PVP, larutan kitosan 2% (w/v) dibuat dengan menimbang 2 gram serbuk kitosan dan melarutkannya dengan 98 mL larutan asam asetat 1% (v/v). Proses pelarutan dilakukan dengan pengadukan menggunakan *stirring hotplate* pada suhu ruang. PVP dan Alg dengan berat tertentu ditambahkan ke larutan kitosan dan dihomogenkan. Sebanyak 5% agen pengikatsilang (Ca^{2+} , Zn^{2+} , dan CH_2O , %b/b terhadap kitosan) ditambahkan ke campuran kitosan-PVP dan reaksi dijalankan selama 3 jam. Setelah terbentuk campuran didinginkan sampai suhu ruang dan produk disaring dan dicuci, selanjutnya dikeringkan pada 50° C.

Uji Aktivitas Antimikrob dengan Metode Difusi Agar Cakram

Uji antimikrob meliputi uji antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* dan uji anti jamur terhadap *Aspergillus niger* dan *Aspergillus plapus* dengan metode difusi agar cakram menggunakan media *potato dextrose agar* (PDA) dan media *nutrient agar* (NA), media *nutrient broth* (NB). Standar antibakteri yang digunakan adalah amoxillin dan ketoconazole sebagai standar anti jamur.

Biakan mikrob uji sebanyak 0,5 mL dipipet secara aseptik ke cawan petri steril, kemudian ditambahkan media NA/PDA yang masih cair (45°C-50°C), dihomogenkan dan didiamkan hingga membeku. Tahap selanjutnya, kertas cakram dicelupkan ke hidrogel CS/PVP/Alg, kemudian diletakkan di atas permukaan media NA/PDA secara aseptik. Inkubasi dilakukan pada temperatur 37 °C selama 24 jam untuk uji anti bakteri, dan selama 3 x 24 jam pada temperatur 30 °C untuk uji anti jamur. Selanjutnya dilakukan pengamatan dan pengukuran zona hambat yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Hidrogel CS/PVP/Alg

Sintesis hidrogel kitosan-PVP dengan metode semi-IPN adalah tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini. Pada tahap ini, kitosan sebagai struktur utama hidrogel diikat silang dengan agen pengikat silang seperti formaldehid, ion Ca^{2+} , Zn^{2+} dengan adanya polimer PVP linier (tidak terikat silang) membentuk jaringan polimer semi-IPN.

Hidrogel disintesis dengan mencampurkan semua bahan menggunakan pelarut asam asetat. Pelarut asam asetat digunakan karena dapat melarutkan kitosan

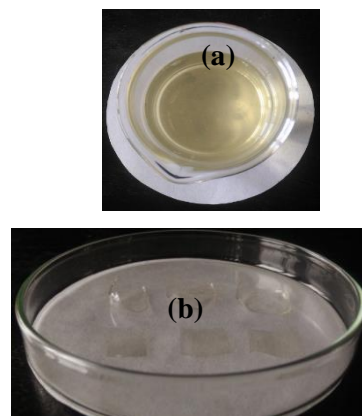
dan PVP (Chengjun Zhou, *et al*, 2011). PVP pada dasarnya dapat larut di dalam air sementara kitosan hanya dapat larut dalam asam-asam organik. Untuk melarutkan kitosan dapat digunakan asam asetat 1% (v/v) dan dibantu pengadukan selama 24 jam (Abdel-Mohsen, A. M., *et al*, 2011).

Pelarut selain berfungsi sebagai medium proses reaksi ikat silang antara kitosan dengan agen pengikat silang, juga berfungsi untuk mencegah kenaikan viskositas secara drastis selama pembentukan hidrogel.

Viskositas sistem yang tinggi dapat menghambat reaksi ikat silang antara kitosan dan agen pengikat silang (Ca^{2+} , Zn^{2+} , dan CH_2O) sehingga membutuhkan waktu reaksi yang lebih lama untuk terbentuknya hidrogel. Selama reaksi ikat silang berlangsung dilakukan pengadukan untuk menghomogenkan sistem dan memudahkan terjadinya tumbukan antar partikel kitosan dan agen pengikat silang.

Hidrogel yang didapat berupa cairan kuning yang mengental karena telah terjadi ikatan silang antara kitosan dan agen pengikat silang. Larutan hidrogel dituang ke dalam wadah pencetak dan dikeringkan dalam oven pada temperatur 60°C selama 48 jam hingga kering (Risbud, M. V., *et al*, 2000). Pengerinan dalam oven akan menguapkan pelarut sehingga setelah kering akan didapatkan hidrogel film berupa

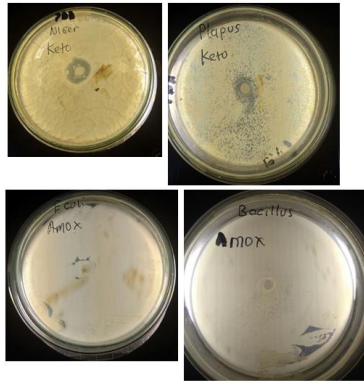
lembaran tipis berwarna kuning seperti pada Gambar 1.



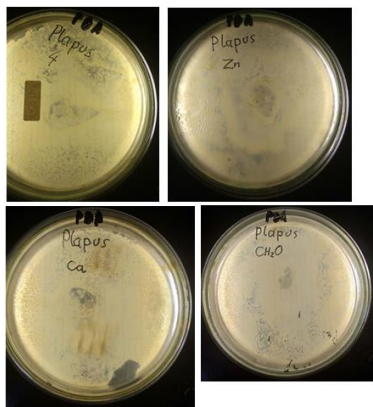
Gambar 1. Hidrogel CS/PVP/Alg semi-IPN: (a) sebelum pengeringan dan (b) setelah pengeringan

Uji Antimikrob Hidrogel CS/PVP/Alg semi-IPN

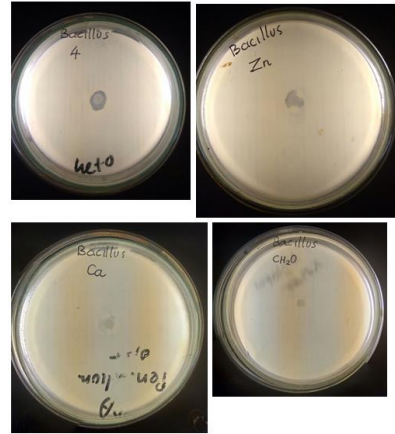
Hasil uji antimikrob dengan metode difusi cakram dapat dilihat pada Gambar 2, 3 dan 4. Berdasarkan pengamatan zona hambat yang dibandingkan dengan standar antibakteri amoxillin dan standar anti jamur ketoconazole, didapatkan bahwa hidrogel CS/PVP/Alg dengan variasi pengikat silang (*crosslinker*) : tanpa agen pengikat silang (CS/PVP/Alg), dengan pengikat silang ion Zn^{2+} (CS/PVP/Alg/ Zn^{2+}); dengan pengikat silang ion Ca^{2+} (CS/PVP/Alg/ Ca^{2+}); dan dengan pengikat silang formaldehid (CS/PVP/Alg/ CH_2O) memberikan hasil zona hambat pada uji antibakteri dan uji anti jamur.



Gambar 2. Hasil uji antimikrob standar amoksilin dan ketokonazol



Gambar 3. Hasil uji anti jamur hidrogel CS/PVP/Alg, CS/PVP/Alg/ Zn²⁺, CS/PVP/Alg/ Ca²⁺, CS/PVP/Alg/ CH₂O semi-IPN dengan *Aspergillus plapus*



Gambar 4. Hasil uji anti bakteri hidrogel CS/PVP/Alg, CS/PVP/Alg/ Zn²⁺, CS/PVP/Alg/ Ca²⁺, CS/PVP/Alg/ CH₂O semi-IPN dengan *Bacillus substilis*

Hasil pengamatan zona hambat hidrogel kitosan modifikasi PVP dan alginat dapat dilihat pada Tabel 1. Hidrogel tanpa agen pengikat silang (CS/PVP/Alg) dapat membentuk ikatan silang melalui interaksi antarmolekul antara gugus amino pada kitosan dengan poli vinilpirolidon dan alginat.

Tabel 1. Hasil Uji Antimikrob Hidrogel CS/PVP/Alg

No.	Kode Contoh	Jamur				Bakteri			
		A. Niger		A. Plapus		E- Coli		Bacillus	
1	Standar Amoxicillin	-	-	-	-	0,2	+	0,1	+
2	Standar Ketoconazole	1,5	+	0,5	+	-	-	-	-
3	CS/PVP/Alg	-	-	0,4	+	-	-	0,9	+
4	CS/PVP/Alg /Zn ²⁺	-	-	1,7	+	-	-	0,5	+
5	CS/PVP/Alg /Ca ²⁺	-	-	1,2	+	0,3	+	0,3	-
6	CS/PVP/Alg /CH ₂ O	-	-	1.1	+	-	-	-	-

Ukuran Zona Hambat (mm)

Hidrogel CS/PVP/Alg memberikan hasil uji sebagai antijamur terhadap *Aspergillus plapus* dan antibakteri terhadap *Bacillus subtilis*. Kemampuan tersebut juga didapatkan pada hidrogel CS/PVP/Alg dengan pengikat silang secara kovalen menggunakan Ca^{2+} dan Zn^{2+} . Pada hidrogel CS/PVP/Alg dengan pengikat silang Ca^{2+} didapatkan juga bersifat antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Sedangkan pada hidrogel CS/PVP/Alg dengan pengikat silang formaldehid bersifat antijamur terhadap *Aspergillus plapus*, namun pada uji antibakteri didapatkan hasil negatif.

Hasil uji hidrogel kitosan yang dimodifikasi dengan PVP dan alginat dengan menggunakan *crosslinker* ion logam (Ca^{2+} dan Zn^{2+}) sejalan dengan penelitian Pitchaya Treenate dan Pathavuth monvisade (2017) dan Tiantian Wu, et al. (2017). Penggunaan ion logam seperti Ca^{2+} , Zn^{2+} dan Al^{3+} sebagai *crosslinker* dapat meningkatkan aktivitas antibakteri dari hidrogel.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa hidrogel kitosan, polivinil pirolidon dan alginat (CS/PVP/Alg) yang disintesis dengan metode semi-IPN (*Interpenetrating Polymer Network*) dengan agen pengikat silang Ca^{2+} dan Zn^{2+} dapat memberikan sifat antibakteri dan antijamur.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Mohsen, A. M., Aly, A. S., Hrdina, R., Montaser, A. S., Hebeish, A. (2011). Eco-synthesis of PVA/chitosan hydrogels for biomedical application. *Journal Polymer Environment* 19 issue 4, 1005-1012.
- Chengjun Zhou, & Qinglin Wu. (2011). A novel polyacrylamide nanocomposite hydrogel reinforced with natural chitosan nanofibers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 84, 155-162.
- Risbud, M. V., Hardikar, A. A., Bhat, S. V., Bhonde, R. R. (2000). pH sensitive freeze-dried chitosan-polyvinyl pyrrolidone hidrogels as controlled release system for antibiotic delivery. *Journal of Controlled Release* 68, 23-30.
- Pitchaya Treenate and Pathavuth monvisade. 2017. In vitro drug release of PH- sensitive hydroxyethylacryl chitosan/sodium alginate hydrogels using paracetamol as a soluble drug. *Journal of Biological Macromolecules*.
- Sadeghi, Mohammad, et al. 2011. Design a Biodegradable Hydrogel for Drug Delivery System. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 76.
- Sadeghi, Mohammad, Mojgan Yarahmadi. 2011. Synthesis and characterization of superabsorbent hydrogel based on chitosan-g-poly (acrylic acid-co-acrylonitrile). *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(57), 12265-12275.
- Tiantian Wu, et al. 2017. Formation of hydrogel based on chitosan/alginate for delivery of lysozyme and their antibacterial activity. *Journal of Food Chemistry*.