AKTIFITAS FOTOKATALIS TITANIA (FeNi -TiO_2) ANATASE PADA SPESIES BAKTERI PATOGEN

Yetria Rilda

Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas, Padang
Email : yetriarilda@yahoo.com

ABSTRAK

Powder titania (FeNi-TiO_2) yang disintesis dengan metoda sol-gel memiliki struktur anatase dengan ukuran nanopartikel 10-15 nm. Powder FeNi-TiO_2 merupakan senyawa fotokatalis dan berpotensi sebagai senyawa antibakteri jika disinari dengan UV λ : 365 nm. Didalam penelitian ini digunakan tiga spesies sel bakteri uji yaitu *Escherichiacoli, Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* yang bersifat patogen dan masing-masingnya memberikan respon positif terhadap powder FeNi-TiO_2 berdasarkan pengukuran (mm) zona inhibisi dengan metoda difusi. Pengamatan secara kuantititatif dengan metoda Viable Cell Count, menunjukkan persentase efisiensi antibakteri dari fotokatalis FeNi-TiO_2 1.5 g/L terhadap masing-masing spesies sel bakteri berkisar antara ~ 92% terhadap sel *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* 89,4 % dan *Bacillus subtilis* 86,1 % pada waktu 180 menit. Perbedaan daya inhibisi FeNi-TiO_2 terhadap masing-masing sel bakteri disebabkan karena perbedaan struktur dan komposisi sel dari bakteri tersebut.

Key word : Antibakteri, Fotokatalis, Inhibisi, Titania Anatase

1. PENDAHULUAN

Senyawa titanium dioksida (titania) berpotensi digunakan sebagai senyawa antibakteri untuk mengatasi pencemaran lingkungan air dan udara akibat terkontaminasi oleh mikroorganisma. Titania merupakan senyawa fotokatalis jika disinari dengan UV λ : 365 nm, proses penyinaran menyebabkan terjadi fotogenerasi elektron-hole pada permukaan titania. Dari proses fotokatalisis ini dapat dibebaskan spesies radikal reaktif $^{\bullet}OH$ dan $^{\bullet}O_2^-$ yang merupakan zat oksidatif yang kuat untuk mendegradasi senyawa organik dari komposisi dinding sel bakteri (Dai *et al*., 2006). Penggunaan titania sebagai senyawa antibakteri mulai dikembangkan sejak Matsunaga pada tahun 1985 menemukan bahwa sel *mikroba Lactobacillus acidophilus, Sacharomyces cerevisiae* dan *Escherichia coli* didalam air dapat didesinfeksi jika berkontak dengan katalis TiO_2-Pt dengan

Diseminarkan pada Seminar dan Rapat Tahunan BKS-PTN Indonesia Bagian Barat Bidang MIPA tanggal 10-11 Mei 2010 di Pekan Baru

adanya sinar UV dekat (Brook *et al.*, 2007). Setelah penemuan ini, penggunaan material semikonduktor titania telah dapat mengurangi pemakaian bahan desinfektan konvensional kimia seperti, alkohol, detergen, klorin, karena tidak efektif untuk beberapa bakteri patogen endospora, dan tidak bersahabat dengan lingkungan karena dapat memberikan efek karsinogenik (Kuhn *et al.*, 2003: Wong *et al.*, 2006). Beberapa peneliti telah menggunakan titania sebagai senyawa antibakteri antara lain adalah, Kim *et al.*, (2007) menggunakan film Ag-TiO_2 sebagai antibakteri, ternyata efektif untuk menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Penelitian Koizumi *et al* .,(2002) : Trapalis *et al.*, (2003) menggunakan indikator senyawa asam para-khlorobenzoat untuk mendeteksi kerusakan sel *MS-2 phage* dan *Escherichia coli*. Rilda.Y., *et al.*, (2007) a dan Rilda.Y., *et al.*, (2008/2009) b, menggunakan titania modifikasi untuk menginhibisi bakteri *Escherichiacoli, Staphylococcus aureus*. Penggunaan powder titania- sebagai senyawa antibakteri alternatif untuk proses inhibisi sel bakteri perlu dikembangkan, karena mengingat sifat dari titania adalah stabil dan non toksik sehingga dapat meminimalkan efek karsinogenik.

Berdasarkan uraian diatas maka didalam paper ini dilaporkan hasil penelitian yang telah dilakukan yang bertujuan untuk menguji kemampuan aktifitas fotokatalis dari powder titania (FeNi doped TiO_2) Anatase sebagai senyawa antibakteri untuk menginhibisi pertumbuhan dari spesies bakteri *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* dan selanjutnya ingin mengetahui apakah ada perbedaan kemampuan inhibisi dari powder FeNi doped TiO_2 untuk menginhibisi dari masing-masing sel bakteri tersebut serta seberapa jauh efisiensi inhibisi optimum yang dapat tercapai dalam waktu tertentu sehingga diperoleh persentasi inhibisi maksimum untuk menginhibisi ketiga spesies sel bakteri tersebut. Pemilihan powder FeNi doped TiO_2 dan spesies bakteri *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* didasarkan pada kelanjutan dari penelitian sebelumnya dengan topik permasalahan yang sama.

Diseminarkan pada Seminar dan Rapat Tahunan BKS-PTN Indonesia Bagian Barat Bidang MIPA tanggal 10-11 Mei 2010 di Pekan Baru

2. BAHAN DAN METODA

Bahan-bahan kimia yang digunakan didalam penelitian ini adalah powder titania ($FeNi\text{-}TiO_2$) hasil sintesis sol-gel dari penelitian sebelumnya, aquadest, kertas aluminium foil, buffer fosfat 0,1 M pH = 7.0, media NA (Nutrien Agar) (merck) dan NB (Nutrien Broth) (merck), PDA (Potato Dekstrosa Agar) (merck), biakan bakteri *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis*. Pengamatan secara kualitatif digunakan metoda Difusi berdasarkan pengamatan zona inhibisi (mm) dan secara kuantitatif dengan metoda Serial Dilusi (Viable Cell Count) berdasarkan perhitungan jumlah koloni sel (sel / mL).

2.1 Penyiapan Suspensi Sel Bakteri

Medium kultur untuk penyediaan stock kultur bakteri digunakan media Nutrien Broth (NB) ditransferkan kedalam erlenmeyer tertutup secara aseptis dan aerobik. Kultur murni bakteri dari agar miring padat Nutrien Agar (NA) yang berumur ± (24 - 48) jam dinokulasi kedalam media inokulum cair nutrien broth (NB) steril, kemudian dinkubasi pada temperatur 37°C, agitasi 200 rpm selama 24 jam, dan dilanjutkan produksi sel didalam medium dengan kondisi yang sama. Sel dipanen setelah diinkubasi selama ± 18 jam dan disentrifus 8000 rpm selama 15 menit. Endapan sel dicuci dengan aquadest steril sebanyak dua kali pengulangan dan sentrifus kembali 8000 rpm selama 15 menit. Kemudian endapan sel dibuat menjadi suspensi dengan menambahkan buffer fosfat 0,1 M pH : 7.0 dengan perbandingan 1 : 10. Penyiapan suspensi sel untuk sampel reaksi fotokatalis dilakukan pengenceran dengan buffer fosfat steril sampai konsentrasi sel 10^3–10^6 sel/mL.

2.2 Media Difusi

Sebanyak ± 15 mL media padat NA dimasukkan kedalam petridish, setelah media membeku, kemudian pada permukaan dioleskan secara merata sebanyak ± 0.1 mL suspensi sel bakteri *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis* dengan konsentrasi sel 10^5 sel/mL, kemudian diletakkan cup stainles still pada permukaan media untuk posisi tempat penambahan $FeNi\text{-}TiO_2$ sebanyak ± 15 mg. Inkubasi didalam chamber dengan penyinaran lampu UV λ_m : 365 nm, 30 Watt,

pada temperatur 37°C, selama 24 jam untuk bakteri pada temperatur ruangan. Intensitas sinar UV dimonitoring dengan detektor (Blue Light safety Detector UV) dengan intensitas 3,25 mW/cm^2 dari jarak 30 cm dengan posisi vertikal diatas permukaan petridish. Pengerjaan dilakukan secara aerobik, duplo dan aseptis. Sebagai kontrol digunakan tanpa penambahan FeNi-TiO_2.

2.3 Media Reaksi Fotokatalis FeNi-TiO_2

Penentuan efisiensi inhibisi dari sel bakteri digunakan metoda dilusi didalam media cair Nutrient Broth (NB) sebagai media reaksi fotokatalis. Penyiapan media dilakukan dengan mereaksikan antara powder FeNi-TiO_2 dan tanpa FeNi -TiO_2 (kontrol) dengan sel bakteri *Escherichia coli, Staphylococcus aureus,* dan *Bacillus subtilis*. Penyiapan media dilakukan dengan mentransferkan kedalam beaker glass 1 mL suspensi sel bakteri awal (10^3-10^6 sel/mL) kedalam 9 mL media cair NB steril dan ± 1.5 g/L powder FeNi–TiO_2. Kemudian campuran reaksi fotokatalis diberikan sistim pengadukan (magnetik stirer) dengan memberikan sinar UV λ_m : 365 nm. Selanjutnya dilakukan perhitungan koloni bakteri secara kuantitatif dengan menggunakan metoda Viable Cell Count berdasarkan perhitungan jumlah koloni yang hidup (Sel/mL).

3. HASIL DAN DISKUSI

Pengujian kemampuan inhibisi powder FeNi-TiO_2 terhadap sel bakteri dapat dilakukan dengan metoda difusi. Metoda difusi merupakan metoda pengujian secara kualitatif berdasarkan pengamatan zona inhibisi pada plat agar. Sel bakteri yang memberikan respon terhadap titania dapat diamati dengan ada / tidak zona inhibisi yang dihasilkan. Zona inhibisi merupakan daerah yang tidak ditumbuhi oleh sel bakteri karena terjadi inhibisi powder titania (FeNi -TiO_2) terhadap pertumbuhan sel bakteri. Jika zona inhibisi lebar menunjukkan bahwa powder tersebut memberikan kemampuan inhibisi lebih besar (respon +), sedangkan jika tidak memberikan zona inhibisi menunjukkan tidak memberikan respon (respon-). Diameter zona inhibisi diukur dalam skala mili meter (mm), untuk zona inhibisi dengan diameter 6 – 10 mm ditandai dengan (+), (10 – 20 mm : ++).

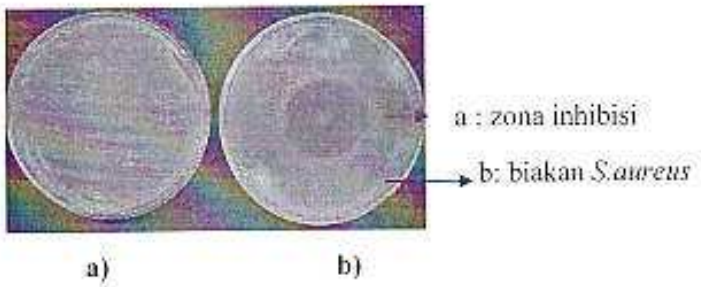
Pada Tabel 1 ditampilkan data pengukuran zona inhibisi dari sel bakteri *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis*.

Tabel 1. Respon inhibisi dari interaksi FeNi-TiO_2 pada sel bakteri

Powder	Diameter Zona Inhibisi		
	E.coli	*S.aureus*	*B.subtilis*
TiO_2	+	+	-
FeNi-TiO_2	++	+	+

Tabel 1 menunjukkan bahwa powder titania (FeNi-TiO_2) yang telah didoping dengan ion dopant transisi FeNi dapat meningkatkan aktifitasnya sehingga sangat berpotensi jika digunakan sebagai senyawa antibakteri karena pada umumnya powder FeNi -TiO_2 memberikan respon positif pada setiap spesies mikroba yang digunakan dengan diameter zona yang berbeda-beda. Dan terjadi peningkatan kemampuan inhibisi pada sel bakteri *Escherichia .coli* jika dibandingkan titania tanpa doping (TiO_2).

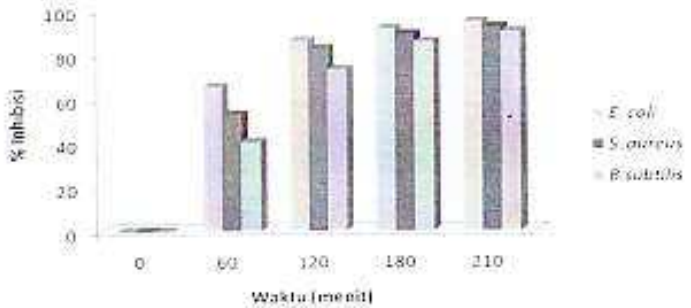
Menurut Yuan *et al.*, (2007), melaporkan bahwa kemampuan fotokataliss titania dipengaruhi oleh jenis ion dopant yang digunakan, dimana masing-masing ion dopant memberikan pengaruh yang berbeda dalam meningkatkan aktifitas fotokatalis dari powder titania, hal ini menunjukkan bahwa ion dopant tersebut dapat memberikan efek yang sangat baik untuk mengubah pita intrinsik dari struktur TiO_2, sehingga merangsang eksitasi elektron pada pita konduksi dan membentuk hole-hole pada pita valensi dan selanjutnya melalui reaksi redoks terjadi pembentukan radikal bebas yang lebih banyak. Radikal bebas merupakan senyawa yang bersifat toksik terhadap sel mikroba.



Gambar1. Zona Inhibisi, interaksi antara powder FeNi-TiO_2 dengan bakteri *S.aureus*, a). Kontrol (tanpa FeNi-TiO_2) b) Sampel (Perlakuan FeNi -TiO_2)

Pada Gambar 1 menampilkan zona inhibisi yang menunjukkan daya hambat dari powder FeNi-TiO_2 terhadap sel bakteri. Pengamatan zona inhibisi powder FeNi-TiO_2 terhadap sel bakteri diamati pada waktu penyinaran UV 24 jam yang disesuaikan dengan lama waktu pertumbuhan optimal dan fase exponensial dari masing-masing spesies sel bakteri.

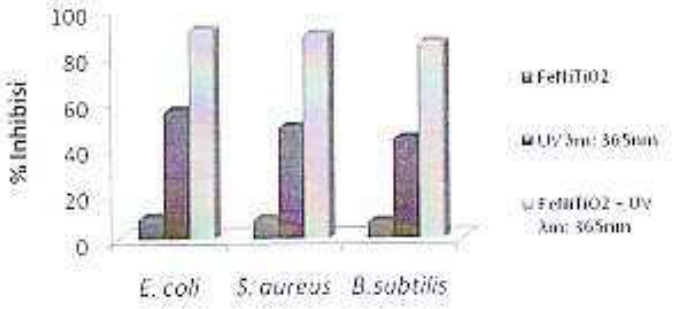
Radikal bebas 'OH merupakan senyawa paling toksik dan lebih efektif untuk menghancurkan spora sel mikroba (Rawat *et al.*, 2007). Radikal bebas akan berpenetrasi ke dalam sel melewati outer membran, dinding sel yang bersifat semi permiabel, selanjutnya ke membran sitoplasma. Efek inhibisi FeNi-TiO_2 terhadap bakteri *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* secara kuantitatif dapat diamati berdasarkan perhitungan jumlah koloni yang hidup dengan menggunakan metoda Viable Cell Count dengan menggunakan peralatan colony counter. Perbandingan jumlah koloni sel kontrol tanpa perlakuan titania dengan jumlah sel koloni yang bertahan hidup dihitung sebagai berapa persentase titania mampu untuk menginhibisi dari sel mikroba yang terukur sebagai persentase inhibisi, seperti ditampilkan pada Gambar 2. Pada Gambar 2 menunjukkan bahwa persentase inhibisi secara signifikan meningkat dengan lamanya waktu penyinaran UV, jika pengamatan dilakukan pada waktu penyinaran UV selama 180 menit dapat dibandingkan bahwa *Eschericia coli* memberikan respon yang paling tinggi dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. Perbedaan disebabkan karena perbedaan struktur sel.



Gambar 2. Respon inhibisi bakteri *E coli, S.aureus dan Bacillus subtilis* terhadap FeNi-TiO_2 1,5 g/L sebagai fungsi dari waktu, pada media reaksi dengan penyinaran UV λ_m: 365 nm

Jika pengamatan dilakukan pada media reaksi yang berbeda pada waktu 180 menit masing-masing sel bakteri menunjukkan kemampuan inhibisi adalah sebagai berikut, pada media reaksi dengan penambahan $FeNiTiO_2$ *Eschericia coli* menunjukkan persentase inhibisi 9,9 %, *Staphylococcus aureus* 9,2% dan *Bacillus subtilis* 9,0%. Sedangkan jika diberi sinar UV terjadi peningkatan efisiensi inhibisi masing-masingnya adalah sebagai berikut : *Eschericia coli* 56,6%, *Staphylococcus aureus* 49,4% dan *Bacillus subtilis* 44,4%. Sinar UV dapat menyebabkan kerusakan pada sel mikroba, karena sinar UV dapat menghambat replikasi DNA secara normal. Jika powder FeNi-TiO_2 dikombinasikan dengan penyinaran UV, maka efek inhibisi akan sangat kompleks untuk proses inhibisi sel bakteri adalah sebagai berikut, *Eschericia coli* 92,0% Staphylococcus *aureus* 89,4% dan *Bacillus subtilis* 86,1%.

Sel bakteri masing-masingnya menunjukkan efisiensi inhibisi optimal pada batas konsentrasi tertentu dari powder titania, seperti ditampilkan pada Tabel 2. Pada waktu penyinaran 180 menit, masing-masing sel mikroba menunjukkan efisiensi inhibisi optimal pada batas konsentrasi1.5 – 2.0 g/L.



Gambar 3. Respon inhibisi bakteri *E. Coli*, *S.aureus* dan *B. Subtilis* terhadap fotokatalis FeNi-TiO_2 dengan variasi media reaksi dan penyinaran UV λ_{an}: 365 nm selama 180 menit

Jika konsentrasi powder > 2.0 g/L menyebabkan terjadinya penurunan efisiensi inhibisi, hal ini disebabkan terjadi efek scattering cahaya UV terhadap suspensi powder FeNi-TiO_2 dan menghambat proses interaksi cahaya dengan suspensi FeNi-TiO_2. Efek ini akan mempengaruhi pertumbuhan dari sel bakteri. Dari hasil

pengamatan pada Gambar 3. karena terjadi gangguan sistim fotokatalitik, menyebabkan terjadi peningkatan kembali pertumbuhan sel bakteri dalam kata lain powder tidak bersifat toksik terhadap sel bakteri.

Tabel 2. Efisiensi Inhibisi dari Powder FeNi-TiO_2 Terhadap Sel Bakteri Pada Waktu 180 menit

Konsentrasi FeNi-TiO_2 g/L	Persentase Inhibisi		
	E. coli	*S. aureus*	*B.subtilis*
0,5	70,6	65,6	59,5
1,0	86,3	78,6	65,4
1,5	92,0	89,4	86,1
2,0	90,3	90,5	88,7
2,5	85,5	83,8	82,5

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian untuk menguji kemampuan aktifitas fotokatalis dari powder titania (FeNi doped TiO_2) anatase sebagai semnyawa antibakteri untuk menginhibisi pertumbuhan dari tiga spesies bakteri yaitu *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* ditemukan bahwa masing-masing spesies sel bakteri memberikan respon yang berbeda pada konsentrasi powder FeNi doped TiO_2 1,5 g/L pada waktu 180 menit adalah sebagai berikut *Escherichia coli* 92,0 %, *Staphylococcus aureus* 89,4 % dan *Bacillus subtilis* 86,1 %. Persentase efisiensi inhibisi optimum dari FeNi -TiO_2 yang dapat tercapai dalam waktu 180 menit untuk menginhibisi dari masing-masing sel bakteri adalah *Escherichia coli*(1,5 g/L), *Staphylococcus aureus* (2,0 g/L) dan *Bacillus subtilis* (2,0 g/L).

DAFTAR PUSTAKA

1. Brook, L.A., P. Evans., H.A. Foster., M.E. Pemble., A. Steele., D.W. Sheel., H.M. Yates. 2007. Highly Bioactive Silver and Silver/Titania Composite Films Grown by Chemical Vapour Deposition. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 187: 53-63

Dai, W., X. Wang., P. Liu., Y. Xu., G. Li, and X. Fu. 2006. Effects of Electron Transfer Between TiO_2 Films and Conducting Substrates on The Photocatalytic Oxidation of Organic Pollutants. *Journal Physic Chemistry B.* 110 : 13470-13476

Koizumi, Y., J. Nishi, and M. Taya. 2002. Photosterilization of *Escherichia coli* Cells Using Iron-Doped Titanium Dioxide Particles. *Journal of Chemical Engineering of Japan.* 35: 299-303

Kim, J.S., E. Kuk., K.N. Yu., J. Kim., S.J. Park., H.J. Lee., S.H. Kim. Y.K. Park., Y.H. Park., C. Hwang., Y. Kim., Y Lee., D.H. Jeong., M. Cho. 2007. Antimicrobial Effects of Silver Nanoparticles. *Nanomedicine: Nanobiotechnology, Biology, and Medicine* 3: 95-101

Kuhn, K.P., I.F. Chaberny., K. Massholder., M. Stickler, V. W. Benz., H. Sonntag., L. Erdinger. 2003. Desinfection of Surfaces By Photocatalytic Oxidation With Titanium Dioxide and UVA Light. *Chemosphere* 53: 71-77

Trapalis, C.C., P. keivanidis., G. Kordas., M. Zaharescu., M. Crisan., A. Szatvanyi., M. Gartner. 2003. TiO_2 (Fe^{3-}) Nanostructured Thin Films With Antibacterial Properties. *Thin Solid Films* 433: 186-190

Rawat, J., S. Rana., R. Srivastava., R. devesh., k. Misra. 2007. Antimicrobial Activity Of Composite Nanoparticles Consisting of Titania Photocatalytic Shell And Nickel Ferrite Magnetic Core. *Material Science and Engineering* . 27 : 540-545.

Rilda,Y., S.Arief., R.Rostika. 2007. "Antibacterial Properties Cu-SiO_2TiO_2 That Preparation Sol-Gel Methods "*Proceedings*, 27-28 August 2007, *Seminar International Chemistry*, Universitas Andalas

Rilda,Y., S. Arief., Y Yusfah. 2008-2009. Inhibisi Titania *Modifikasi Terhadap Bakteri Patogen. Prosiding Seminar Hasil Hibah Bersaing DIKTI*, 13 Oktober, Jakarta

Wong, M., W. Chu., D. Sun., H. Huang., J. Chen., P. Tsai., N. Lin., M. Yu., S. Hsu. 2006. Visible-Light-Induced Bactericidal Activity of a Nitrogen-Doped Titanium Photocatalyst Against Human Pathogens. *Applied and Environmental Microbiology* 72: 6111-6116

Yuan, Z., J. Zhang., B.Li., J. Li. 2007. Effect of Metal Ion Dopant on Photochemical Properties of Anatase TiO_2 Film Synthesized by a Modified Sol-Gel Method. *Thin Solid Film* 515. 7091-7095