

PENGARUH AKTIVASI PANAS DAN PENAMBAHAN Cu PADA ZEOLIT TERHADAP DAYA ANTIMIKROBA PADA *Staphylococcus aureus*

Siti Sunarintyas, Harsini, Noor Hafida Widyastuti, Christine Windayani Inan

Biomaterial, FKG-UGM, Yogyakarta, Indonesia

Abstract

The Influence of Heat Activation and Cu Addition on Zeolite towards the Antimicrobial Effect on *Staphylococcus aureus*.

Zeolite is a pore mineral occupied by ions and water molecules. Heat activation of zeolite causes the release water molecules, from the pores and increases zeolite adsorbance capacity. Zeolite can be used as an antimicrobial agent by shifting its cation with other cation that has antimicrobial effect. The aim of this research is to determine the influence of heat activation and Cu addition on zeolite towards its antimicrobial effect on *Staphylococcus aureus*. There were 5 groups for heat activation of zeolite experiment: room temperature (100°C, 200°C, 300°C, and 400°C). Using effective heat activation temperature, the research was continued to determine the effect of Cu addition on *Staphylococcus aureus* growth. There were 4 groups of Cu concentration addition on zeolite: 0.025 M, 0.05 M, 0.1M, and 0.2 M. Antimicrobial test of Cu-zeolite was determined by diffusion method. The data were analyzed by using Anova and LSD. The result showed that there was a significant difference among various zeolite heat activation toward *Staphylococcus aureus* growth ($p < 0.05$). The temperature of 200°C became the effective heat activation of zeolite against *Staphylococcus aureus* growth. It also showed a significant effect of various Cu concentration additions on zeolite towards *Staphylococcus aureus* growth ($p < 0.05$). In conclusion, zeolite heat activation up to 400°C and the addition of Cu on zeolite up to 0.2M influence the antimicrobial effect on *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal of Dentistry 2006; Edisi Khusus KPPIKG XIV:279-283*

Key words : heat activation – Cu – zeolite - *Staphylococcus aureus*

Pendahuluan

Penyebaran infeksi pada klinik kedokteran gigi dapat terjadi dari pasien satu ke pasien yang lain, dari dokter gigi ke pasien, atau dari pasien ke dokter gigi. Penyebaran infeksi dari pasien satu ke pasien lain dapat berlangsung melalui media instrumen, tangan dokter gigi, atau melalui kontak tangan dokter gigi dengan instrumen yang terkontaminasi. Sterilisasi merupakan salah satu cara untuk menghentikan penyebaran infeksi. Salah satu cara

sterilisasi kimia yang sering dilakukan adalah sterilisasi menggunakan ion logam.¹

Penelitian logam berat sebagai senyawa antimikroba telah dilakukan sejak akhir abad ke-19.² Pada awal abad ke-21 dikembangkan senyawa antimikroba yang terbuat dari paduan logam berat dengan material berpori dan memiliki luas permukaan tinggi seperti lempung, silika, alumina, dan karbon.³ Penelitian paduan logam berat dengan material berpori pada pengolahan air menunjukkan beberapa keunggulan di antaranya tidak

mempengaruhi rasa, bau dan warna air yang diolah, efektif melawan mikroorganisme, merupakan bahan kimia yang stabil, serta bekerja pada berbagai pH dan temperatur.⁴

Zeolit merupakan batuan berpori yang banyak ditemukan di Indonesia terutama di daerah pegunungan berapi. Struktur kristal berpori yang dimiliki zeolit menyebabkan zeolit dapat difungsikan sebagai penyaring molekul, pemisah gas, adsorben zat, dan katalisator.⁵ Pori zeolit berisi ion dan molekul air yang dapat bergerak bebas sehingga zeolit dapat mengalami pertukaran ion.⁶

Zeolit yang dipanaskan akan melepaskan molekul air yang ada dalam pori sehingga terbentuk ruang hampa.⁷ Pemanasan juga menyebabkan medan listrik meluas dan secara efektif berinteraksi dengan molekul yang diadsorpsi.³

Salah satu usaha untuk lebih memanfaatkan zeolit alam di bidang medis adalah dengan cara menukar kation zeolit dengan kation lain yang bersifat antimikroba seperti Cu, Ag, Mn, atau Zn. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa Cu-vermikulit 0,1 M efektif menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.⁸

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh aktivasi panas dan penambahan Cu pada zeolit alam yang berasal dari Gunung Kidul, Yogyakarta, terhadap daya antimikroba pada *Staphylococcus aureus*.

Bahan dan Cara Kerja

Penelitian ini menggunakan bahan sebagai berikut: zeolit alam asal Gunung Kidul, Yogyakarta, $\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, akuades, *Staphylococcus aureus*, Muller Hinton Agar (MHA), Brain Infusion Heart (BHI), dan alkohol 70 %. Alat yang digunakan adalah: oven, jangka sorong, *heat magnetic stirrer*, penggerus, ayakan, cawan porselen, termometer, spatula, ose, *spreader*, piring petri, dan inkubator.

Preparasi zeolit. Zeolit yang diperoleh dari Kabupaten Gunung Kidul dihancurkan menggunakan penggerus kemudian disaring menggunakan ayakan untuk mendapatkan serbuk zeolit 200 mesh.

Aktivasi panas zeolit. Zeolit ditimbang sebanyak 10 gram. Zeolit dibagi menjadi lima kelompok, masing-masing kelompok beratnya 2 gram. Zeolit dimasukkan ke dalam cawan porselen, kemudian dipanaskan menggunakan oven selama 1 jam. Suhu yang digunakan pada masing-masing kelompok adalah sebagai berikut: kelompok A

dipanaskan pada suhu 100°C, kelompok B dipanaskan pada suhu 200°C, kelompok C dipanaskan pada suhu 300°C, kelompok D dipanaskan pada suhu 400°C. Pada kelompok kontrol, zeolit dibiarkan pada suhu kamar.

Preparasi larutan $\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Serbuk CuCl_2 sebanyak 1,4 gram dibagi menjadi 4 kelompok konsentrasi yaitu: kelompok 0,025 M (0,05 gram CuCl_2 + 11,73 ml akuades), kelompok 0,05 M (0,05 gram CuCl_2 + 5,86 ml akuades), kelompok 0,1 M (0,05 gram CuCl_2 + 2,93 ml akuades), dan kelompok 0,2 M (0,05 gram CuCl_2 + 1,46 ml akuades).

Preparasi Cu-zeolit. Serbuk zeolit yang telah diaktivasi panas menggunakan suhu efektif sebanyak 0,075 gram dicampur dengan 0,05 gram larutan $\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, kemudian dipanaskan pada suhu 80°C sambil diaduk menggunakan *heat magnetic stirrer*.⁸

Penyaringan dan pencucian Cu-zeolit. Campuran Cu-zeolit disaring menggunakan kertas saring kemudian dicuci menggunakan akuades sebanyak 15 kali agar didapatkan campuran Cu-zeolit yang benar-benar bersih dari kotoran.

Pengeringan Cu-zeolit. Cu-zeolit yang telah disaring dan dicuci, dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 24 jam.⁸ Bahan yang telah selesai dikeringkan selanjutnya disebut Cu-zeolit.

Pengujian daya antimikroba. Daya antimikroba Cu-zeolit diuji menggunakan metode difusi.⁹ Suspensi *Staphylococcus aureus* dengan standar Brown III 10^8 CFU/ml sebanyak 0,1 ml diteteskan di atas MHA. Media MHA dibuat sumuran dengan diameter 6mm. Cu-zeolit dimasukkan pada lubang sumuran sebanyak 0,075 gram. Sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambat bakteri diukur menggunakan jangka sorong dalam satuan mm.

Hasil Penelitian

Pengukuran zona hambat Cu-zeolit dengan zeolit yang diaktivasi pada beberapa kelompok suhu terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan kenaikan nilai rerata sampai dengan suhu 200°C (tabel 1). Rangkuman hasil analisis variansi (anova) satu jalur dan uji LSD dari zona hambat Cu-zeolit terhadap *Staphylococcus aureus* dengan zeolit yang diaktivasi pada berbagai suhu seperti pada Tabel 2 dan 3. Berdasarkan Tabel 3 diketahui bahwa suhu aktivasi zeolit 200°C bersifat efektif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Hasil pengukuran zona hambat Cu-zeolit terhadap *Staphylococcus aureus* dengan penambahan Cu pada

berbagai konsentrasi pada suhu aktivasi efektif menunjukkan kenaikan nilai sesuai dengan kenaikan konsentrasi Cu (Tabel 4). Analisis selanjutnya menggunakan anava satu jalur dan LSD dari

pengaruh variasi penambahan Cu pada zeolit terhadap daya antimikroba seperti pada Tabel 5 dan 6.

Tabel 1. Zona Hambat Cu-zeolit dengan Zeolit yang Diaktivasi pada Berbagai Suhu (mm)

| Replikasi | Aktivasi pada suhu kamar (kontrol) | Suhu aktivasi panas zeolit (°C) | | | |
|----------------|---------------------------------------|---------------------------------|------|------|------|
| | | 100 | 200 | 300 | 400 |
| 1 | 5,82 | 6,30 | 7,30 | 7,50 | 6,70 |
| 2 | 5,70 | 7,04 | 7,26 | 7,46 | 7,40 |
| 3 | 6,12 | 7,00 | 7,86 | 7,00 | 7,46 |
| 4 | 5,56 | 6,46 | 7,50 | 7,00 | 7,02 |
| 5 | 5,60 | 6,64 | 6,94 | 7,28 | 7,30 |
| Rerata | 5,76 | 6,68 | 7,37 | 7,25 | 7,18 |
| Simpangan baku | 0,22 | 0,32 | 0,33 | 0,24 | 0,31 |

Tabel 2. Anava Zona Hambat Cu-zeolit dengan Zeolit yang Diaktivasi pada Berbagai Suhu

| Sumber keragaman | Derajat bebas | Jumlah kuadrat | Kuadrat tengah | Nilai uji F | Probabilitas |
|-------------------|---------------|----------------|----------------|-------------|--------------|
| Diantara kelompok | 4 | 8,758 | 2,189 | 25,503 | 0,001 |
| Dalam kelompok | 20 | 1,717 | 0,086 | | |

Tabel 3. LSD Zona Hambat Cu-zeolit dengan Zeolit yang Diaktivasi pada Berbagai Suhu

| Suhu aktivasi zeolit (°C) | Kontrol | 100 | 200 | 300 | 400 |
|---------------------------|---------|--------|--------|--------|--------|
| Kontrol | - | 0,928* | 1,612* | 1,488* | 1,416* |
| 100 | - | - | 0,684* | 0,560* | 0,488* |
| 200 | - | - | - | 0,124 | 0,196 |
| 300 | - | - | - | - | 0,072 |
| 400 | - | - | - | - | - |

Tabel 4. Zona Hambat Cu-zeolit dengan Penambahan Cu pada Berbagai Variasi (mm)

| Replikasi | Zeolit tanpa Cu (kontrol) | Konsentrasi penambahan Cu (M) | | | |
|----------------|---------------------------|-------------------------------|------|-------|-------|
| | | 0,025 | 0,05 | 0,1 | 0,2 |
| 1 | 0 | 7,06 | 8,30 | 9,67 | 10,36 |
| 2 | 0 | 7,58 | 8,22 | 10,10 | 10,33 |
| 3 | 0 | 7,15 | 8,94 | 9,38 | 10,42 |
| 4 | 0 | 7,76 | 8,56 | 10,06 | 10,32 |
| 5 | 0 | 7,71 | 8,13 | 9,87 | 10,16 |
| 6 | 0 | 7,08 | 8,72 | 9,74 | 10,21 |
| 7 | 0 | 7,54 | 8,61 | 9,41 | 10,28 |
| Rerata | 0 | 7,41 | 8,49 | 9,74 | 10,29 |
| Simpangan baku | 0 | 0,30 | 0,29 | 0,28 | 0,08 |

Tabel 5. Anava Zona Hambat Cu-zeolit dengan Penambahan Cu pada Berbagai Variasi

| Sumber keragaman | Derajat bebas | Jumlah kuadrat | Rerata kuadrat | Nilai uji F | Probabilitas |
|-------------------|---------------|----------------|----------------|-------------|--------------|
| Diantara kelompok | 3 | 35,117 | 11,706 | 174,546 | 0,001 |
| Dalam kelompok | 24 | 1,610 | 0,067 | | |

Tabel 6. LSD Zona Hambat Cu-zeolit dengan Penambahan Cu pada Berbagai Variasi

| Penambahan Cu (M) | 0,025 | 0,05 | 0,1 | 0,2 |
|-------------------|-------|--------|--------|--------|
| 0,025 | - | 1,085* | 2,335* | 2,885* |
| 0,05 | - | - | 1,250* | 1,800* |
| 0,1 | - | - | - | 0,550* |
| 0,2 | - | - | - | - |

Pembahasan

Tabel 1 menunjukkan adanya perbedaan nilai rerata zona hambat kelompok kontrol (aktivasi suhu kamar) dengan kelompok lainnya. Hal ini berarti bahwa zeolit yang diaktivasi panas di atas suhu kamar mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* lebih baik daripada zeolit yang tidak diaktivasi. Analisis lebih lanjut menggunakan anava menunjukkan aktivasi panas zeolit berpengaruh terhadap daya antimikroba Cu-zeolit pada *Staphylococcus aureus* (Tabel 2). Hal ini mungkin disebabkan karena aktivasi panas zeolit menyebabkan molekul air yang berada dalam pori zeolit terlepas. Semakin banyak molekul air yang terlepas, medan listrik meluas ke dalam pori.⁸ Hal ini dapat menyebabkan ion yang terdapat dalam pori zeolit terlepas dan mengalami pertukaran dengan ion molekul lain.

Uji LSD (Tabel 3) menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok zeolit yang diaktivasi pada suhu 200°C, 300°C, dan 400°C. Hal ini berarti bahwa suhu 200°C merupakan suhu aktivasi zeolit yang efektif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, karena aktivasi zeolit pada suhu 200°C membutuhkan lebih sedikit energi pemanasan bila dibandingkan dengan aktivasi zeolit pada suhu 300°C dan 400°C. Hasil penelitian yang diperoleh sejalan dengan penelitian yang menunjukkan kemampuan zeolit alam dalam menghilangkan air pada pemanasan 110°C selama 3 jam.¹⁰

Logam Cu dapat memasuki pori zeolit melalui aksi pertukaran ion. Pertukaran ion antara zeolit dengan Cu²⁺ terjadi karena kation yang terdapat pada pori zeolit dapat bergerak bebas dan mengalami pertukaran ion dengan ion lain yang

berdiameter hampir sama. Diameter Cu²⁺ adalah 0,072 nm,¹¹ sedangkan pori zeolit sekitar 0,2-1 nm.⁸

Tabel 4 menunjukkan bahwa kelompok kontrol (tanpa penambahan Cu) tidak menunjukkan daya antimikroba. Hal ini berarti bahwa ion Cu bersifat antimikroba. Ada dua kemungkinan mekanisme yang dapat menjelaskan aksi antibakteri Cu-zeolite, yaitu : (1) *slow release agent*, yaitu Cu-zeolit melepaskan kation Cu²⁺ sedikit demi sedikit secara perlahan ke dalam larutan, kemudian kation Cu²⁺ berinteraksi dengan membran sel bakteri yang bermuatan negatif sehingga mengakibatkan rusaknya dinding sel bakteri, atau kation Cu²⁺ berinteraksi dengan protein protoplasma sel membentuk senyawa Cu-proteinat sehingga bakteri tidak dapat melakukan metabolisme sel;¹² (2) perangkap pori zeolit, yaitu bakteri memasuki pori zeolit dan berinteraksi dengan kation Cu²⁺ sehingga bakteri mati.¹³ Dari dua mekanisme ini, kemungkinan yang terjadi pada penelitian ini adalah mekanisme *slow release agent*. Cu pada Cu-zeolit bermuatan positif sedangkan membran sel bakteri bermuatan negatif. Apabila muatan positif bertemu dengan muatan negatif maka akan timbul gaya tarik menarik. Membran sel bakteri akan menarik Cu yang bermuatan positif secara perlahan sehingga Cu²⁺ sedikit demi sedikit terlepas ke dalam larutan dan mengakibatkan rusaknya dinding sel bakteri. Semakin tinggi konsentrasi Cu maka semakin banyak jumlah Cu²⁺ yang terlepas ke dalam larutan dan semakin banyak jumlah senyawa Cu-proteinat yang terbentuk sehingga metabolisme sel bakteri menjadi terhambat dan akhirnya bakteri mati.

Mekanisme perangkap pori zeolit tidak dapat terjadi pada penelitian ini. Hal ini karena ukuran *Staphylococcus aureus* 0,5-1,5 µm atau 500-1500 nm,¹⁴ sedangkan ukuran pori zeolit 0,2-1 nm.⁸ Bakteri tidak dapat masuk ke pori zeolit karena

ukuran *Staphylococcus aureus* lebih besar daripada pori zeolit.

Kesimpulan penelitian ini adalah: (1) aktivasi zeolit sampai dengan suhu 400°C berpengaruh terhadap daya antimikroba Cu-zeolit pada *Staphylococcus aureus*, (2) penambahan Cu pada zeolit sampai dengan konsentrasi 0,2 M berpengaruh terhadap daya antimikroba Cu-zeolit pada *Staphylococcus aureus*.

Daftar Acuan

1. Satish GMD. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi ke-3. Jakarta: Binarupa Aksara, 1990:68-69, 74-5.
2. Levinson W, Jawetz E. *Medical Microbiology and Immunology*, 7th ed. New York: McGraw-Hill Book Companies Inc., 2002:91-5.
3. Sutarti M, Rachmawati. *Zeolit: Tinjauan Literatur*. Jakarta: Pusat Dokumentasi dan Informasi Ilmiah, 1994:1-7.
4. Jenkins MR, Gilles GC. *Emerging Antimicrobial Technology Offers Broad Control of Pathogenic Microorganism*. [Http://www.Apyron.com/pdfs/wcp-wb.pdt](http://www.Apyron.com/pdfs/wcp-wb.pdt). Diakses pada tanggal 20/12/04.
5. Van Gent. *Search or Novel Open Framework Material Using Various Copper Based Compounds*. [Http://www.nnf.cornell.edu/1999REI/ra/VanGen.pdf](http://www.nnf.cornell.edu/1999REI/ra/VanGen.pdf) Diakses pada tanggal 08/12/2004.
6. Breck DW. *Industrial Minerals and Rocks*. 5th Ed. Vol 2. New York: Society of Mining Engineering American Institute of Mining Metallurgical and Petroleum Engineers, 1983:1399-1410.
7. Windsor CM. *Computational Studies of Zeolite Catalysis*. [Http://www.mch3w.ch.man.ac.uk/theory/posters/cmw/poster.htm](http://www.mch3w.ch.man.ac.uk/theory/posters/cmw/poster.htm). Diakses pada tanggal 16/01/2005.
8. Li B, Yu S, Hwang J, Shi S. *Antibacterial Ermiculite Nano-Material*. *J Mineral and Materials characterization and engineering* 2002;1(1):61-6v8.
9. Lin H, Li T, Song T, Wang S. *The preparation and Application of the Bacteriostatic Inorganic Materials for Environment Decontamination*. Beijing: General Environmental Protection, 2003:579-89.
10. Izuaga R, Petranovski V, Fuentes GR, Bogdanchikova N, Avalos M. *Modification of Mordenite and Natural Clinoptilolite by Copper: Role of Drying Temperature*. [Http://www.imre.oc.uh.cu/webzeolitas/papers_sci_info/cu_clinop_mor](http://www.imre.oc.uh.cu/webzeolitas/papers_sci_info/cu_clinop_mor) 2001. pdf. Diakses pada tanggal 25/02/2005.
11. Bell RG. *What are Zeolites ?* [Http://www.bza.org/zeolite.html](http://www.bza.org/zeolite.html) 08/12/2004.
12. Faundez G, Trancoso M, Navarrete P, Figueroa G. *Antimicrobial Activity of Copper Surface against Suspension of Salmonella enterica and Campylobacter jejuni*. [Http://www.biomedcentral.com/](http://www.biomedcentral.com/) Diakses pada tanggal 22/02/05:1471-2180/4/19
13. Dede E. *Cu-montmorillonit sebagai bahan antibakteri pada E.coli*. Yogyakarta: Fakultas MIPA Universitas Gadjah Mada, 2004:38-40.
14. Howard BJ, Kloos WE. *Clinical and Pathogenic Microbiology*. Philadelphia: Mosby Company, 1987:231-2, 237-9.