

**SINTESIS DAN KARAKTERISASI FILM NANOKOMPOSIT Ag/Cu-
AGAROSA DARI *Gracilaria sp.* SEBAGAI KEMASAN ANTIBAKTERI**

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF Ag/Cu-AGAROSE
NANOCOMPOSITE FILM FROM *Gracilaria sp.* AS ANTIBACTERIAL
PACKAGING

RAHMANIAH ZAINUDDIN



**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**SINTESIS DAN KARAKTERISASI FILM NANOKOMPOSIT Ag/Cu-
AGAROSA DARI *Gracilaria sp.* SEBAGAI KEMASAN ANTIBAKTERI**

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Kimia

Disusun dan diajukan oleh

RAHMANIAH ZAINUDDIN
H012211002

Kepada

**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUNDDIN
MAKASSAR
2024**

TESIS

**SINTESIS DAN KARAKTERISASI FILM NANOKOMPOSIT Ag/Cu-
AGAROSA DARI *Gracilaria sp.* SEBAGAI KEMASAN ANTIBAKTERI**

RAHMANIAH ZAINUDDIN

NIM: H012211002

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam
rangka Penyelesaian Studi Program Magister Program Kimia Fakultas
Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin
pada tanggal 13 Januari 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama



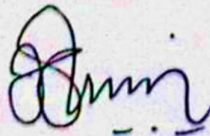
Prof. Dr. Ahyar Ahmad
NIP. 196712311991031020

Pembimbing Pendamping



Budi Saksiono, M.Sc., Ph.D
NIP. 196810021989011001

**Ketua Program Studi
Magister Kimia**



Prof. Dr. Hasnah Natsir, M.Si
NIP. 196203201987112001

**Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin**



REKAMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN
TEKNOLOGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN

Dr. Eng. Amiruddin, M.Si
NIP. 197205151997021002

**PERNYATAAN KEASLIAN TESIS
DAN KELIMPAHAN HAK CIPTA**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rahmaniah Zainuddin

NIM : H012211002

Program Studi : Kimia

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Sintesis dan Karakterisasi Film Nanokomposit Ag/Cu-Agarosa dari *Gracilaria sp.* sebagai Kemasan Antibakteri" adalah benar karya saya dan arahan dari komisi pembimbing (Prof. Dr. Ahyar Ahmad sebagai Pembimbing Utama dan Budi Saksono, M.Sc., Ph.D sebagai Pembimbing Pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah disubmit di New Journal of Chemistry sebagai artikel dengan judul "*Agarose-Based Antibacterial Films from Gracilaria sp.: Isolation, Characterization, and Metal Nanoparticle Incorporation*".

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 8 Maret 2024



Rahmaniah Zainuddin

NIM. H012211002

UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmanirrahim, segala puji dan Syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena berkat Rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul **“SINTESIS DAN KARAKTERISASI FILM NANOKOMPOSIT Ag/Cu-AGAROSA DARI *Gracilaria sp.* SEBAGAI KEMASAN ANTIBAKTERI”** sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Sains di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. Shalawat dan salam kepada Nabi besar Muhammad S.A.W.

Ucapan terima kasih dan penghargaan penulis sampaikan kepada seluruh pihak yang membantu dalam proses penyelesaian tesis ini, terutama kepada Ayahanda **Prof. Dr. Ahyar Ahmad** dan Ayahanda **Budi Saksono, M.Sc., Ph.D** selaku penasehat untuk penulis yang senantiasa meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya dalam membimbing dan memberikan arahan yang baik, terutama dalam penyelesaian penelitian ini.

Penulis juga tidak lupa mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ayahanda **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc** selaku Rektor Universitas Hasanuddin beserta seluruh staf pegawai.
2. Ayahanda **Dr. Eng. Amiruddin, S.Si, M.Si** selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin beserta seluruh staf pegawai.
3. Ibunda **Prof. Dr. Hasnah Natsir, M.Si** selaku Ketua Program Studi S2 Kimia Universitas Hasanuddin, beserta dosen dan staf yang telah membantupenulis dalam perjalanan menyelesaikan pendidikan ini.
4. Dosen penguji ujian, yaitu Ibunda **Prof. Dr. Paulina Taba, M.Phil**, Ibunda **Prof. Dr. Indah Raya, M.Si**, dan Ibunda **Dr. Rugaiyah Arfah, M.Si**.
5. Ayahanda **Dr. Akbar Hanif Dawam A, M.T** sebagai Kepala Pusat Riset Biomaterial dan Bioproduk Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong yang telah memberikan izin penelitian.
6. Ibunda **Riksfardini Annisa Ermawar, Sita Heris Anita**, dan **Deni Zulfiana** sebagai peneliti di Pusat Riset dan Biomaterial dan Bioproduk BRIN yang telah membantu dan memberikan arahan selama penelitian berlangsung.

7. Seluruh **Penyelia dan Analis Laboratorium** di Pusat Riset dan Biomaterial dan Bioproduk BRIN Cibinong dan Laboratorium Biokimia Universitas Hasanuddin atas bantuan serta arahannya selama penelitian berlangsung.
8. Pak Irsan dan Ibu Risky Mahira yang telah membantu penulis dalam hal administrasi selama menempuh pendidikan.
9. Teman-teman Angkatan 2021 Ganjil dan Pondok Aisyah atas bantuan dan semangat selama penulis menempuh pendidikan.
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu penulis menyelesaikan tesis ini.

Kepada kedua orang tua tercinta, Bapak **Zainuddin** dan Ibu **Safia Hasanuddin**. Ucapan terima kasih yang sangat besar dan tak terhingga untuk setiap semangat, motivasi, bantuan, kasih sayang dan doa yang tidak henti-hentinya diberikan kepada saya. Penghargaan yang besar juga saya sampaikan kepada kakak tercinta, **Moh. Riadhi Zainuddin** dan **Rizki Amalia Zainuddin** atas motivasi dan dukungan yang tak ternilai.

Penulis sadar bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun dari semua pihak. Akhir kata, semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi pembacanya dan terutama bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, 13 Februari 2024

Penulis

ABSTRAK

RAHMANIAH ZAINUDDIN, **Sintesis dan Karakterisasi Film Nanokomposit Ag/Cu-Agarosa dari *Gracilaria sp.* sebagai Kemasan Antibakteri** (dibimbing oleh Ahyar Ahmad dan Budi Saksono)

Penelitian ini bertujuan untuk membuat kemasan antibakteri berbasis agarosa yang diisolasi dari rumput laut *Gracilaria sp.*, dengan penambahan nanopartikel perak (AgNPs) dan tembaga (CuNPs). Agarosa diisolasi dengan memutuskan ikatan antara agarosa dan agaropektin menggunakan larutan NaOH, yang meningkatkan pembentukan 3,6-anhidro-L-galaktosa. Karbon aktif dan celite 545 digunakan untuk memisahkan agarosa dari agaropektin sehingga diperoleh agarosa berwarna putih. Nanopartikel logam disintesis dengan metode reduksi, dan film nanokomposit dibuat dengan metode *solution casting*. Aktivitas antibakteri film diuji dengan metode difusi agar. Kemasan antibakteri dikarakterisasi untuk mengevaluasi sifat fisik, kelarutan, mekanik, biodegradabilitas, morfologi, gugus fungsi, dan potensi aplikasi sebagai kemasan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa agarosa dari *Gracilaria sp.* yang berhasil diisolasi memiliki karakteristik serupa dengan agarosa komersial, dengan kandungan sulfat 0,29%, titik leleh 91°C, titik pembentukan gel 36,5°C, dan spektrum IR yang mirip. Uji antibakteri mengindikasikan bahwa nanokomposit Ag-agarosa aktif melawan *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Bacillus subtilis*, sementara nanokomposit Cu-agarosa aktif melawan *Staphylococcus aureus*. Aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh konsentrasi nanopartikel logam dan sifat fisik film. Film nanokomposit yang berhasil dibuat berpotensi sebagai bahan kemasan antibakteri karena mudah terdegradasi dan memiliki aktivitas antibakteri yang dapat memperpanjang masa simpan makanan.

Kata Kunci : *Gracilaria sp.*, Agarosa, Nanopartikel Perak, Kemasan Antibakteri

ABSTRACT

RAHMANIAH ZAINUDDIN, **Synthesis and Characterization of Ag/Cu-Agarose Nanocomposite Films from *Gracilaria sp.* as Antibacterial Packaging** (supervised by Ahyar Ahmad and Budi Saksono)

This study aims to make agarose-based antibacterial packaging isolated from *Gracilaria sp.* seaweed, with the addition of silver (AgNPs) and copper (CuNPs) nanoparticles. Agarose was isolated by breaking the bond between agarose and agaropectin using NaOH solution, which promotes the formation of 3,6-anhydro-L-galactose. Activated carbon and celite 545 were used to separate agarose from agaropectin to obtain white agarose. Metal nanoparticles were synthesized by reduction method, and nanocomposite films were prepared by solution casting method. The antibacterial activity of the films was tested by the agar diffusion method. The antibacterial packaging was characterized to evaluate physical properties, solubility, mechanics, biodegradability, morphology, functional groups, and potential applications as packaging. The results showed that the successfully isolated agarose from *Gracilaria sp.* had similar characteristics to commercial agarose, with a sulfate content of 0.29%, melting point of 91°C, gel formation point of 36.5°C, and similar IR spectra. Antibacterial tests indicated that Ag-agarose nanocomposites were active against *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Bacillus subtilis*, while Cu-agarose nanocomposites were active against *Staphylococcus aureus*. The antibacterial activity is influenced by the concentration of metal nanoparticles and the physical properties of the film. The successfully prepared nanocomposite film has potential as an antibacterial packaging material because it is easily degradable and has antibacterial activity that can extend the shelf life of food.

Keywords: *Gracilaria sp.*, Agarose, Metal Nanoparticle, Antibacterial Packaging

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Rumput Laut <i>Gracilaria sp.</i>	5
2.2 Agarosa	6
2.3 Ikan Fufu.....	8
2.4 Nanokomposit dalam Kemasan Antibakteri.....	9
2.5 Nanopartikel Logam sebagai Agen Antibakteri.....	10
2.4.1 Nanopartikel Perak (AgNPs).....	11
2.4.2 Nanopartikel Tembaga (CuNPs).....	12
2.6 Gliserol.....	13
2.7 Bakteri Penyebab Penyakit	14
2.6.1 Bakteri Gram-Positif	14
2.6.2 Bakteri Gram-Negatif.....	14
2.8 Karakterisasi Kemasan Antibakteri.....	15
2.7.1 Ketebalan	15
2.7.2 Densitas	16
2.7.3 Kelarutan.....	16
2.7.4 Sifat Mekanik.....	17
2.7.5 Sifat Morfologi	17

2.7.6 Uji FTIR.....	17
2.7.7 Sifat Biodegradabilitas.....	18
2.7.8 Sifat Antibakteri.....	19
2.9 Kerangka Konseptual.....	20
2.10 Hipotesis.....	22
BAB III METODE PENELITIAN.....	23
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	23
3.2. Alat dan Bahan.....	23
3.2.1 Alat Penelitian.....	23
3.2.2 Bahan Penelitian.....	24
3.3. Metode Penelitian.....	24
3.3.1 Preparasi Sampel <i>Gracilaria sp</i>	24
3.3.2 Uji Komponen Kimiawi <i>Gracilaria sp</i>	25
3.3.3 Isolasi Agarosa dari <i>Gracilaria sp</i>	28
3.3.4 Uji Kualitas Agarosa.....	28
3.3.5 Sintesis Nanopartikel Logam.....	30
3.3.6 Sintesis Film Nanokomposit Logam-Agarosa.....	31
3.3.7 Uji Aktivitas Antibakteri.....	32
3.3.8 Karakterisasi Film Nanokomposit Logam-Agarosa.....	32
3.3.9 Uji Potensi Kemampuan Film Nanokomposit Logam-Agarosa sebagai Kemasan Antibakteri.....	35
BAB IV PEMBAHASAN.....	37
4.1. Preparasi Sampel dan Uji Komponen Kimia <i>Gracilaria sp</i>	37
4.2. Isolasi Agarosa.....	38
4.3. Karakterisasi Agarosa.....	39
4.3.1. Kandungan Sulfat Agarosa.....	39
4.3.2. Sifat Fisik Agarosa.....	40
4.3.3. Karakterisasi Gugus Fungsi Agarosa dengan FTIR.....	41
4.4. Sintesis dan Karakterisasi Nanopartikel Logam.....	43
4.4.1 Nanopartikel Perak (AgNPs).....	43
4.4.2.Nanopartikel Tembaga (CuNPs).....	45
4.5. Sintesis Kemasan Antibakteri.....	47
4.5.1. Analisis Ketebalan, Densitas dan Kelarutan Kemasan Antibakteri.....	48
4.5.2. Sifat Mekanik Kemasan Antibakteri.....	50
4.5.3. Sifat Morfologi Kemasan Antibakteri.....	51

4.5.4. Sifat Fungsional Kemasan Antibakteri	53
4.5.5. Reaksi Sintesis Kemasan Antibakteri	55
4.5.6. Sifat Antibakteri Kemasan	56
4.5.7. Sifat Biodegradabilitas Kemasan Antibakteri	60
4.6. Aplikasi Kemasan Antibakteri	62
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	64
5.1. Kesimpulan	64
5.2. Saran	64
DAFTAR PUSTAKA.....	65
LAMPIRAN	74

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Kandungan agarosa dari beberapa jenis rumput laut.....	8
2. Aktivitas antibakteri nanopartikel perak (AgNPs).....	11
3. Aktivitas antibakteri nanopartikel tembaga (CuNPs).....	13
4. Formulasi film nanokomposit dengan variasi gliserol	31
5. Formulasi film nanokomposit dengan variasi konsentrasi nanopartikel	32
6. Hasil uji komponen kimia <i>Gracilaria sp.</i>	37
7. Perbandingan kandungan sulfat agarosa dari <i>Gracilaria sp.</i> dengan agarosa komersial dan spesies lainnya.....	39
8. Perbandingan sifat fisik agarosa dari <i>Gracilaria sp.</i> , dengan agarosa komersial dan spesies alga yang berbeda	40
9. Tabulasi data spektrum IR agarosa <i>Gracilaria sp.</i> dan agarosa komersial	42
10. Karakteristik film antibakteri dengan variasi penambahan gliserol...	49
11. Sifat Mekanik Kemasan Antibakteri.....	50
12. Tabulasi Data Spektrum IR Kemasan Antibakteri	54
13. Klasifikasi aktivitas antibakteri	58
14. Hasil uji TPC sampel ikan fufu setelah 24 jam inkubasi	63

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Rumput Laut <i>Gracilaria sp.</i>	5
2. Struktur Agarosa	7
3. Ikan Fufu.....	8
4. Struktur sel bakteri Gram-positif.....	14
5. Struktur sel bakteri Gram-negatif	15
6. Kerangka Konseptual Penelitian	21
7. Bentuk dan ukuran sampel uji	34
8. Proses Isolasi Agarosa	38
9. Hasil spektrum FTIR agarosa	42
10. (a) Ilustrasi pembentukan nanopartikel perak (b) Proses perubahan warna dalam pembentukan nanopartikel perak.....	44
11. Hasil karakterisasi menggunakan (a) Spektrofotometri UV-Vis (b) PSA	45
12. (a) Mekanisme reaksi pembentukan nanopartikel tembaga (b) Proses perubahan warna dalam pembentukan nanopartikel tembaga.....	46
13. Hasil karakterisasi CuNPs menggunakan (a) Spektrofotometri (b) PSA	47
14. Kemasan antibakteri dengan variasi gliserol	48
15. Hasil SEM-EDS Film Antibakteri	52
16. Spektrum IR Kemasan Antibakteri	53
17. Ilustrasi mekanisme reaksi pembentukan film Ag-agarosa.....	55
18. Ilustrasi mekanisme reaksi pembentukan film Cu-agarosa.....	56
19. Aktivitas Antibakteri Film Nanokomposit Selama 24 Jam	57
20. Uji biodegradable menggunakan metode Soil Burial Test (SBT).....	61
21. Penurunan berat kemasan setelah 14 hari dengan metode SBT	62

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1.	Bagan Kerja Penelitian	73
2.	Analisis Data Penelitian	83
3.	Dokumentasi Penelitian	118

DAFTAR ARTI SINGKATAN

SIMBOL/SINGKATAN	ARTI/KETERANGAN
AgNPs	Nanopartikel perak
<i>B.subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
CuNPs	Nanopartikel tembaga
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EIEC	<i>Enteroinvasif E.coli</i>
ETEC	<i>Enterotoksogenik E.coli</i>
FTIR	<i>Fourier Transform Infra-red</i>
IL-6	<i>Interleukin-6</i>
IR	Inframerah
KLT	Kromatografi lapis tipis
NA	<i>Nutrient agar</i>
NO	<i>Nitric oxide</i>
<i>P.aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginonas</i>
PSA	<i>Particle Size Analyzer</i>
SEM-EDS	<i>Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive Spectroscopy</i>
SPSS	<i>Statistical product and service solutions</i>
<i>S.thypimurium</i>	<i>Salmonella thypimurium</i>
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S.epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
TGA	<i>Thermogravimetric Analysis</i>
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
UV-Vis	<i>Ultraviolet Visible</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Provinsi Maluku Utara mempunyai potensi sumber daya perikanan yang berlimpah. Komoditas perikanan yang paling unggul dan dominan di Maluku Utara adalah ikan cakalang, terutama di daerah Pulau Ternate, Hiri, Maitara, dan Tidore. Ikan cakalang memiliki pasar yang cukup luas, yaitu sebagai konsumsi lokal dan bahan baku pembuatan ikan fufu (ikan asap) (Zulham dan Subaryono, 2017).

Ikan fufu merupakan salah satu olahan ikan tradisional yang memanfaatkan teknik pengasapan untuk mempertahankan kualitas dan daya simpan ikan. Salah satu bahan pangan yang mudah mengalami kerusakan adalah ikan. Kerusakan pada ikan dapat disebabkan oleh enzim atau mikroorganisme pembusuk. Oleh karena itu, ikan memerlukan penanganan khusus untuk mempertahankan mutunya (Tumonda dkk., 2017).

Proses pengawetan dengan teknik pengasapan dapat membuat ikan menjadi awet karena adanya pengurangan kadar air akibat dari proses pemanasan dan adanya senyawa-senyawa kimia di dalam asap, seperti golongan fenol, yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan berperan sebagai antioksidan (Landangkasiang dkk., 2017). Ikan fufu dapat bertahan selama 3 hari pada suhu ruang dan 6 hari bila dikemas dalam vakum (Saleh dkk., 2018; Husen dan Daeng, 2018).

Umumnya bahan makanan sangat rentan terhadap kerusakan dan kontaminasi oleh mikroorganisme pembusuk dan patogen yang dapat menimbulkan penyakit bawaan makanan (*foodborne disease*). Kerusakan dan kontaminasi pada makanan tidak hanya menurunkan nilai gizi dan cita rasa, tetapi juga dapat membahayakan kesehatan manusia. Untuk mengatasi permasalahan ini, perlunya penggunaan kemasan pangan yang tepat sangat penting untuk melindungi makanan dari kerusakan dan kontaminasi, sehingga tetap aman dan layak dikonsumsi (Sridhar dkk., 2021).

Penerapan kemasan pangan yang sesuai dapat memainkan peran besar dalam mempertahankan kualitas dan keamanan produk makanan. Kemasan dapat mencegah atau memperlambat reaksi kimia seperti oksidasi lemak,

menghalangi kelembaban yang memicu pertumbuhan mikroba, melindungi makanan dari kontaminasi fisik dan biologis, serta memperpanjang masa simpan produk (Salim dkk., 2021). Oleh karena itu, pemilihan bahan kemasan yang tepat merupakan kunci penting dalam industri pangan guna menjaga mutu dan keamanan produk hingga sampai ke tangan konsumen.

Salah satu bahan kemasan pangan paling umum digunakan saat ini adalah plastik. Plastik memiliki sejumlah keunggulan seperti harga murah, ringan, kuat, tahan lama, transparan, dan mudah dibentuk (Rahayu dan Arpah, 2004). Namun, mayoritas jenis plastik yang digunakan saat ini adalah plastik konvensional dari bahan polimer sintetis seperti polietilen, polipropilena, polistirena, dan PVC yang sulit terdegradasi secara alami. Plastik jenis ini bertahan hingga ratusan tahun di lingkungan sehingga menimbulkan masalah pencemaran mikroplastik yang serius jika tidak dikelola dengan baik (Barboza dkk., 2018).

Pengembangan bahan kemasan ramah lingkungan yang mudah terurai menjadi sangat penting untuk mengatasi permasalahan plastik. Salah satu alternatif yang menjanjikan adalah plastik *biodegradable*, yaitu plastik yang dapat diuraikan secara alami oleh mikroorganisme dalam waktu yang relatif singkat (Kamsiati dkk., 2017). Plastik *biodegradable* pada umumnya dibuat dari bahan polimer alami seperti pati, selulosa, kitin, dan polimer sintetis yang telah dimodifikasi agar mudah terurai (Mahmud dkk., 2021). Plastik *biodegradable* dapat terdekomposisi dalam hitungan minggu atau bulan jika dibuang ke lingkungan, serta tidak meninggalkan residu berbahaya (Barboza dkk., 2018). Dengan demikian, plastik *biodegradable* dapat membantu mengurangi permasalahan sampah plastik dan pencemaran mikroplastik.

Sumber polimer alami yang berpotensi sebagai bahan baku plastik *biodegradable* adalah rumput laut. Rumput laut mengandung polisakarida seperti alginat, keregenan dan agarosa yang prospektif diaplikasikan dalam pembuatan plastik ramah lingkungan (Abdul Khalil dkk., 2017). Polimer dari rumput laut bersifat terbarukan, ramah lingkungan, dan relatif ekonomis karena rumput laut merupakan komoditas perikanan yang melimpah di Indonesia.

Salah satu polisakarida rumput laut yang menjanjikan untuk dikembangkan sebagai bahan kemasan adalah agarosa. Agarosa adalah polimer alami penyusun utama agar yang diekstrak dari beberapa spesies rumput laut merah seperti *Gracilaria sp.* (Khanra dkk., 2018). *Gracilaria sp.* paling banyak digunakan dalam produksi agar-agar karena rumput laut ini mudah diperoleh, ekonomis, dan proses

pengolahannya lebih sederhana. *Gracilaria sp.* menghasilkan agar-agar dengan kekuatan gel yang kuat dan kokoh dibandingkan hasil ekstraksi dari rumput laut jenis lain seperti *Gelidium sp.* Hal ini karena *Gracilaria sp.* mengandung agarosa dengan jumlah yang besar. Perbandingan agarosa dan agaropektin pada *Gracilaria sp.* sekitar 20:1, lebih tinggi dibandingkan genus *Gelidium sp.* dengan perbandingan 5:1. Kandungan agarosa yang tinggi memungkinkan terbentuknya ikatan silang antar rantai polisakarida sehingga menghasilkan gel agar-agar yang kuat dan stabil (Zhang dkk., 2019).

Agarosa bersifat netral dan stabil sehingga material ini berpotensi untuk dimanfaatkan dalam berbagai keperluan, termasuk sebagai bahan dasar plastik *biodegradable*. Agarosa dapat membentuk lapisan tipis yang melindungi makanan dari kontaminasi mikroba. Selain itu, agarosa juga memiliki aktivitas antibakteri alami yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme pembusuk dan patogen pada makanan jika dikombinasikan dengan agen antibakteri (Amanda dkk., 2020).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri agarosa dapat ditingkatkan dengan menggabungkannya dengan nanopartikel logam seperti perak dan tembaga (Gholinejad dan Jeddi, 2014; Onofre-Cordeiro dkk., 2018). Nanopartikel perak memiliki efek antimikroba yang kuat karena dapat melepaskan ion perak yang bersifat toksik bagi mikroorganisme. Studi telah melaporkan efektivitas nanopartikel perak dalam menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan lainnya (Khodashenas, 2016). Selain itu, nanopartikel tembaga juga telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan. Beberapa penelitian telah menunjukkan efektivitas nanopartikel tembaga dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Salmonella thypimurium*, *Escherichia coli*, dan *Listeria monocytogenes* (Usman dkk., 2013). Oleh karena itu, immobilisasi nanopartikel perak dan tembaga pada film tipis agarosa berpotensi untuk menghasilkan kemasan antimikroba alami yang sangat efektif.

Film nanokomposit yang menggabungkan agarosa dan nanopartikel logam diharapkan memiliki sifat mekanik dari agarosa dan aktivitas antibakteri dari nanopartikel logam. Film berbasis agarosa dapat disintesis dengan metode *solution casting*, lalu diikuti penambahan nanopartikel logam. Film nanokomposit hasil sintesis perlu dikarakterisasi sifat fisikokimiawi seperti morfologi permukaan

dan gugus fungsi. Selain itu, pengujian aktivitas antibakteri perlu dilakukan terhadap mikroba indikator untuk memastikan efektivitasnya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi agarosa dari *Gracilaria sp.* sebagai bahan dasar film antibakteri dengan penambahan nanopartikel logam (AgNPs/CuNPs) sebagai agen antibakteri. Film antibakteri akan digunakan untuk membungkus ikan fufu agar tidak mudah rusak. Film antimikroba berbasis agarosa-nanopartikel logam ini diharapkan dapat menjadi alternatif pengganti plastik konvensional, untuk menjaga keamanan dan memperpanjang masa simpan makanan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. bagaimana karakteristik agarosa hasil isolasi dari rumput laut *Gracilaria sp.*?
2. bagaimana aktivitas antibakteri film nanokomposit Ag/Cu-Agarosa?
3. bagaimana potensi film nanokomposit Ag/Cu-Agarosa sebagai bahan kemasan antibakteri?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. menganalisis karakteristik agarosa hasil isolasi dari rumput laut *Gracilaria sp.*,
2. menganalisis aktivitas antibakteri film nanokomposit Ag/Cu-Agarosa,
3. menganalisis potensi film nanokomposit Ag/Cu-Agarosa sebagai bahan kemasan antibakteri.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. memberikan informasi terkait karakteristik agarosa hasil isolasi dari rumput laut *Gracilaria sp.*,
2. memberikan informasi terkait aktivitas antibakteri film nanokomposit Ag/Cu-Agarosa,
3. memberikan informasi terkait potensi film nanokomposit Ag/Cu-Agarosa sebagai bahan kemasan antibakteri.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rumput Laut *Gracilaria sp.*

Rumput laut merupakan tanaman multiseluler yang hidup di perairan laut dangkal. Rumput laut dikelompokkan ke dalam tiga divisi berdasarkan pigmen fotosintesisnya, yaitu *Rhodophyta* (alga merah), *Phaeophyta* (alga coklat) dan *Chlorophyta* (alga hijau). Rumput laut mengandung beragam polisakarida seperti alginat, agar, fucoidan, agarosa, karagenan dan ulvan yang bermanfaat secara ekonomi (Abdul Khalil dkk., 2017).

Salah satu spesies rumput laut dari divisi *Rhodophyta* adalah *Gracilaria sp.* yang biasanya tumbuh di perairan dangkal dengan intensitas cahaya tinggi pada suhu optimum 20 – 28°C (Arifuddin, 2007). Morfologi *Gracilaria sp.* mirip dengan rumput laut lainnya, dengan akar, cabang dan daun yang tidak begitu jelas. Ciri khas *Gracilaria sp.* adalah bentuk talus yang silindris atau pipih, dengan percabangan sederhana dan rimbun. Bagian ujung talus biasanya lebih kecil dengan permukaan halus dan berbintil-bintil. Diameter talus berkisar 0,5 – 2 mm dengan panjang mencapai 30 cm atau lebih (Nurhajar, 2021). Rumput laut *Gracilaria sp.* ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Rumput Laut *Gracilaria sp.*

Klasifikasi rumput laut *Gracilaria sp.* menurut Agustang dkk. (2017) adalah sebagai berikut:

Divisi : Rhodophyta
Kelas : Rhodophyceae
Ordo : Gigartinales
Famili : Gracilariaceae
Genus : *Gracilaria*
Spesies : *Gracilaria sp*

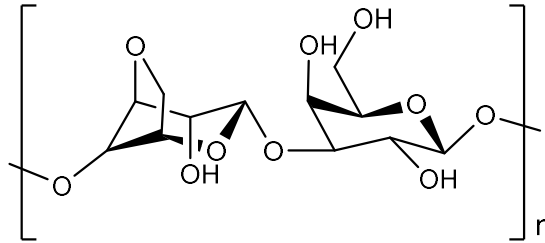
Komposisi nutrisi *Gracilaria sp.* adalah karbohidrat 41,68%, protein 6,59%, lemak 0,68%, air 9,73%, abu 32,76% dan serat 8,92%. *Gracilaria sp.* juga kaya kalsium dan mengandung senyawa 11-deoxyprostaglandins yang berfungsi sebagai anti-inflamasi dengan mencegah produksi senyawa pro-inflamasi seperti NO, IL-6 dan TNF- α akibat lipopolisakarida (Dang dkk., 2008). Selain itu, *Gracilaria sp.* mengandung agarosa yang dimanfaatkan sebagai gel untuk elektroforesis (Meena dkk.,2007).

Pemanfaatan *Gracilaria sp.* di Indonesia, sebagai bahan baku industri agar-agar dengan kadar agar-agar mencapai 47,34%. *Gracilaria sp.* banyak digunakan karena mudah diperoleh, ekonomis dan mudah diolah menjadi agar-agar. Hasil ekstraksi agar-agar dari *Gracilaria sp.* memiliki kekuatan gel yang kuat dan kokoh dibandingkan hasil dari rumput laut lain seperti *Gelidium sp.* Hal ini disebabkan kandungan agarosa dan agaropektin dari *Gracilaria sp.* yang baik. Perbandingan agarosa dan agaropektin pada *Gracilaria sp.* sekitar 20:1, lebih tinggi dibandingkan genus *Gelidium sp.* dengan perbandingan 5:1. Kandungan agarosa juga dipengaruhi oleh metode produksi dan kadar sulfat agar-agar yang diekstraksi (Zhang dkk.,2019).

2.2 Agarosa

Agar merupakan produk ekstraksi dari rumput laut merah (*agarophyte*). Agar adalah senyawa polisakarida dengan rantai panjang yang tersusun atas ulangan unit molekul. Unit molekul penyusun agar terdiri dari dua jenis, yaitu agarosa dan agaropektin (Abidin, 2015).

Agarosa merupakan polimer linier dengan berat molekul (BM) 120.000 – 150.000. Agarosa tersusun atas pengulangan unit agarobiosa, yaitu disakarida dari D-galaktosa dan 3,6-anhidro-L-galaktopiranosida, yang dihubungkan oleh ikatan α -(1 \rightarrow 3) dan β -(1 \rightarrow 4) glikosidik (Zarrintaj dkk., 2018). Struktur agarosa ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Agarosa (Aslinda dan Ahmad, 2016)

Agarosa merupakan bahan yang sangat penting dalam biologi molekuler dan digunakan untuk pemisahan DNA atau RNA. Agarosa komersial tersedia dalam berbagai grade dengan titik leleh dan kekuatan gel yang bervariasi. Salah satu produsen agarosa komersial terkemuka adalah Sigma-Aldrich. Beberapa jenis agarosa komersial dari Sigma yang dijual dengan harga bervariasi berkisar Rp 4.219.200 - Rp 50.722.628 per 100 g. Agarosa low electroendosmosis (AGRLE-RO) merupakan agarosa dengan harga paling murah yang dijual oleh Sigma yaitu Rp 4.219.200 per 100 g. Sedangkan agarose ultra-low gelling (A5030) merupakan jenis agarosa termahal dari Sigma dengan harga sekitar Rp 12.68.657 per 25 g (SigmaAldrich, 2023).

Harga agarosa yang mahal ini dapat diatasi dengan mengisolasi agarosa dari rumput laut dengan metode yang lebih ekonomis. Rasio agarosa dan agaropektin dalam agar bervariasi bergantung pada jenis spesiesnya dan berkisar 50-90% (Abidin, 2015). Spesies yang berbeda akan menghasilkan perbandingan agarosa dan agaropektin berbeda pula. Kandungan agarosa dari beberapa jenis rumput laut ditunjukkan pada Tabel 1.

Agarosa dapat dimanfaatkan pada berbagai bidang yaitu pada bidang farmasi, kosmetik, sel enkapsulasi, imunologi, kultur jaringan, elektroforesis, optik sensor, dan sebagai fase diam pada kromatografi. Kemampuan agarosa untuk membentuk gel yang kuat dan muatan listrik mendekati netral membuatnya banyak digunakan di bidang bioteknologi. Agarosa yang baik untuk bidang bioteknologi harus memiliki kualitas yang baik dengan karakteristik meliputi kadar abu 0,06-0,20% (b/b), titik leleh di atas 70°C, suhu pembentukan gel 35-39°C, kadar sulfat 0-0,15% (b/b), kekuatan gel minimal 1000 g/cm² dan derajat elektroendosmosis dari agarosa 1% adalah 0,10 atau kurang (Abidin, 2015; Gu dkk., 2017).

Tabel 1. Kandungan agarosa dari beberapa jenis rumput laut (Adrin, 2017)

Jenis rumput laut	Kandungan agarosa (%)
<i>Gelidium amansii</i>	61
<i>Gelidium subcostatum</i>	89
<i>Gelidium japonicum</i>	69
<i>Pterocladia tenuis</i>	85
<i>Acanthopeltis japonicum</i>	28
<i>Campylaephora hypnoides</i>	55
<i>Gracilaria verrucosa</i>	61
<i>Geranium bodydenii</i>	82

Agarosa merupakan salah satu polisakarida yang dapat disintesis menjadi bahan nano untuk beragam aplikasi. Penelitian sebelumnya telah berhasil mensintesis agarosa sebagai bahan nano (nanopartikel, nanogel dan nanofilm) sebagai penyimpanan dan pengiriman obat, hidrolisis galaktosa dan agen antibakteri (Argudo dkk., 2018; Ansari dkk., 2018; Satar dkk., 2016; Onofre-Cordeiro dkk., 2018).

2.3 Ikan Fufu

Ikan fufu atau ikan asap merupakan salah satu produk olahan ikan tradisional yang populer di Masyarakat Ternate. Ikan fufu dibuat dengan cara memberikan perlakuan pengasapan pada ikan segar (Hamid, 2018). Secara organoleptik, ikan fufu memiliki warna kekuningan atau kecoklatan tergantung lama waktu pengasapan. Rasa gurih dan aroma khas asap juga menjadi ciri khas ikan fufu. Tekstur daging ikan fufu padat dan kering namun tetap empuk saat dikonsumsi (Aly dkk., 2022). Ikan fufu ditunjukkan pada Gambar 3.

**Gambar 3.** Ikan Fufu

Proses pembuatan ikan fufu diawali dengan persiapan bahan baku berupa ikan segar. Ikan yang biasa digunakan sebagai bahan pembuatan fufu diantaranya ikan cakalang, tuna, dan tongkol. Setelah bahan baku siap, ikan dibersihkan lalu diasinkan sebentar agar meresap. Berikutnya dilakukan proses pengasapan dengan menggunakan alat pengasapan tradisional berbahan bakar sabut kelapa. Pengasapan adalah proses pemberian senyawa kimia dari hasil pembakaran bahan alami kayu ke dalam tubuh ikan. Proses ini bertujuan untuk memberikan cita rasa khas, memperpanjang daya simpan, serta mengawetkan ikan (Landangkasiang dkk, 2017). Lama waktu pengasapan berkisar 1-5 jam dengan suhu 80-100°C. Semakin lama waktu pengasapan, rasa dan aroma fufu yang dihasilkan akan semakin kuat (Aly dkk., 2022).

2.4 Nanokomposit dalam Kemasan Antibakteri

Inovasi teknologi nano telah menarik banyak perhatian dan berpengaruh besar pada industri kemasan pangan. Penggunaan material berukuran nano pada kemasan pangan dapat menjamin keamanan dan mutu produk. Selain itu, inovasi pada skala nano dan aplikasinya pada senyawa polimer telah membuka peluang baru untuk perbaikan pada sifat-sifat pilimer, biaya, dan pembuatan yang lebih efisien (Sudibyو and Hutajulu, 2013).

Salah satu inovasi teknologi nano adalah dalam pembuatan kemasan *biodegradabel* yang ramah lingkungan. Kemasan biodegradabel berbeda dengan plastik konvensional karena bersifat biokompatibel, terbarukan, ekonomis, dan mudah diperoleh dari sumber pertanian dan kelautan (Mahmud dkk., 2021). Penerapan teknologi nano pada industri kemasan selain digunakan untuk membuat kemasan ramah lingkungan yang mudah terdegradasi, juga telah dikembangkan untuk mendeteksi bakteri *pathogen*, membuat kemasan aktif, kemasan antimikroba, dan penghambat pembentukan racun (Sudibyو dan Hutajulu, 2013).

Bahan polimer yang digunakan sebagai bahan dasar kemasan biodegradable dapat dengan mudah diperoleh dari sumber pertanian dan kelautan. Polisakarida dari sumber laut sangat berpotensi digunakan sebagai bahan kemasan biodegradabel karena mudah diperoleh, kuat, dan ramah lingkungan (Mahmud dkk., 2021). Rumput laut merupakan sumber polisakarida

paling melimpah yang meliputi alginat, agar, fucoidan, karagenan, ulvan, dan agarosa (Abdul Khalil dkk., 2017).

Penelitian terbaru menunjukkan bahwa agarosa dalam bentuk nanopartikel atau dikompositkan dengan nanopartikel logam memiliki aktivitas antibakteri yang baik sehingga berpotensi sebagai bahan kemasan antibakteri (Satar dkk., 2016; Ghasemzadeh dkk., 2021). Namun, aktivitas antibakterinya termasuk lemah dan tidak spesifik. Untuk meningkatkannya, agarosa dapat dikompositkan dengan material antibakteri membentuk nanokomposit. Sifat berpori agarosa yang digabungkan dengan nanopartikel logam antibakteri dapat menghasilkan aktivitas antibakteri yang sangat baik dan supersensitif terhadap *E.coli* dan *S.aureus* (Hassanvand dan Hashemi, 2018; Gholinejad dan Jeddi, 2014).

2.5 Nanopartikel Logam dan Aktivitas Antibakterinya

Istilah "nanoteknologi" digunakan untuk mendefinisikan teknologi apa pun yang dapat digunakan untuk memanipulasi materi pada tingkat molekuler dan membuat materi, perangkat, dan struktur yang memiliki dimensi 1 hingga 100 nm. Partikel dalam kisaran ukuran ini memperoleh sifat yang sangat berbeda dari bahan asal mereka (Pande dan Bhaskarwar, 2016).

Nanoteknologi digambarkan sebagai manipulasi materi atom, dijelaskan secara teoritis pada 1960-an oleh Richard Feynman, dan praktiknya muncul satu dekade kemudian. Nanoteknologi tidak dapat dipisahkan dari nanopartikel. Nanopartikel umumnya merupakan bahan berukuran nano submikron yang dapat diperoleh dari berbagai bahan sintesis dan alami (Tarhini dkk., 2018).

Penggunaan nanopartikel logam seperti perak dan tembaga pada kemasan pangan merupakan inovasi yang berpotensi memberikan manfaat seperti aktivitas antimikroba. Namun, aspek keamanan dan risiko toksikologis dari nanopartikel ini perlu diuji secara ketat dan menyeluruh terlebih dahulu sebelum diaplikasikan. Penggunaan nanopartikel perak untuk kemasan pangan telah diatur dengan penetapan batas migrasi yang diperbolehkan, yaitu 0,05 mg/L untuk migrasi ke dalam air minum dan 0,05 mg/kg untuk migrasi ke dalam makanan (Istiqola dan Syafiuddin, 2020). Oleh karena itu, diperlukan kajian risiko lebih lanjut serta penetapan batas migrasi yang aman sesuai standar internasional sebelum nanopartikel ini mulai diaplikasikan secara luas pada kemasan pangan yang beredar di Indonesia.

2.4.1 Nanopartikel perak (AgNPs)

Koloid perak telah lama diketahui memiliki sifat antimikroba. Kemampuan antimikroba perak dapat membunuh semua mikroorganisme patogenik, dan belum dilaporkan adanya mikroba yang resisten terhadap perak. Penelitian terkait aktivitas antibakteri nanopartikel perak ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Aktivitas antibakteri nanopartikel perak (AgNPs)

No	Reduktor	Zona Hambat Bakteri		Referensi
		Gram negatif	Gram Positif	
1	Trinatrium sitrat	<i>E.coli</i> (7,5 mm)	<i>B.subtilis</i> (7,5 mm)	Khatoon dkk. (2013)
2	<i>Averrhoa bilimbi</i> L. (daun)	<i>E.coli</i> (0,8 mm)	<i>S.aureus</i> (5,45 mm)	Prasetiowati dkk. (2018)
3	Natrium alginat	<i>E.coli</i> (12,6 mm)	<i>S.aureus</i> (12,7 mm)	Shao dkk. (2018)
4	<i>Plantago major</i> L. (daun)	<i>P. aeruginosa</i> (5,13 mm) <i>E.coli</i> (6,18 mm)	<i>S.aureus</i> (7,19 mm)	Dewi dkk. (2019)
5	Glukosa	<i>E.coli</i> (18 mm)	<i>S.aureus</i> (25 mm)	Pavoski dkk. (2019)
6	Natrium borohidrida	<i>P. aeruginosa</i> (12 mm)	<i>B.subtilis</i> (14 mm)	Thiruvengadam dan Bansod (2020)
7	<i>Citrus limon</i> (kulit)	<i>E.coli</i> (35 mm)	<i>S.aureus</i> (35 mm)	Alkhulaifi dkk. (2020)
8	<i>Alocasia macrorrhizos</i>	<i>E.coli</i> (17,73 mm)	<i>S.aureus</i> (12,63mm)	Masykuroh dan Puspasari (2022)

Ukuran partikel logam perak memengaruhi aktivitas antimikrobanya. Semakin kecil ukuran partikel logam perak, maka aktivitas antimikrobanya semakin besar (Ariyanta, 2016). Ukuran nanopartikel perak memengaruhi aktivitas antibakteri karena memiliki luas permukaan yang besar sehingga dapat melakukan penetrasi ke dalam bakteri melalui membran sel dan selanjutnya akan berdifusi serta merusak siklus pernafasan bakteri sampai akhirnya sel bakteri mati (Fadhila dkk., 2021).

Perak dalam bentuk nanopartikel koloidal dan nanokomposit film telah banyak diteliti memiliki aktivitas antibakteri yang kuat (Sanpui dkk., 2008). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa nanopartikel koloidal perak memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar dibandingkan nanokomposit film perak. Misalnya penelitian Pavoski dkk. (2019) melaporkan zona hambatan nanopartikel

perak terhadap *E. coli* mencapai 18 mm, sementara penelitian Badawy dkk. (2019) melaporkan zona hambatan film nanokomposit kitosan-perak terhadap bakteri yang sama adalah 14,67 mm.

Perbedaan aktivitas antibakteri ini dapat terjadi karena sebagian besar ion perak pada koloidal dapat berinteraksi langsung dengan sel bakteri, sedangkan pada film nanokomposit pelepasan ion peraknya lebih lambat karena terikat pada matriks polimer (Prabhu and Poulouse, 2012). Namun demikian, kedua jenis nano perak ini sama-sama menunjukkan potensi kuat sebagai agen antibakteri.

2.4.2 Nanopartikel Tembaga (CuNPs)

Penelitian terkait nanopartikel tembaga (CuNPs) banyak dilakukan karena merupakan salah satu nanopartikel logam yang memiliki sifat fisika dan kimia yang menarik untuk diaplikasikan dalam berbagai bidang. Selain itu, preparasi nanopartikel tembaga lebih murah jika dibandingkan dengan logam lainnya seperti logam Au, Ag, dan Pt (Surmawar dkk., 2011). Nanopartikel tembaga merupakan bahan yang potensial di bidang teknik kimia karena aplikasinya dalam proses katalitik dan sensor gas (Carnes dan Klabunde, 2003; Yang Zhang dkk., 2007). Dalam bidang kesehatan dan pangan, nanopartikel tembaga dimanfaatkan sebagai pembalut luka dan biosida (Borkow dkk., 2010).

Nanopartikel tembaga memiliki potensi yang besar untuk dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan karena memiliki aktivitas farmakologi yang luas yaitu sebagai antibakteri, antijamur, antiparasit dan lain-lain (Shende dkk., 2015). Nanopartikel tembaga menunjukkan efektivitas antibakteri yang tinggi terhadap bakteri Gram-negatif (*Rhizobium sp*, *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae* dan *S.thypimurium*) dan bakteri Gram-positif (*S.aureus* dan *B.aureus*) yang ditunjukkan pada Tabel 3. Aktivitas antibakteri dari nanopartikel tembaga membuatnya menjadi salah satu kandidat antibakteri.

Nanopartikel koloidal tembaga umumnya menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih kuat dibandingkan nanokomposit film tembaga (Longano dkk., 2011). Misalnya penelitian Rajeshkumar dkk. (2019), nanopartikel tembaga menghasilkan zona bening terhadap bakteri *E. coli* sebesar 22,20 mm, sedangkan film nanokomposit tembaga hanya menghasilkan zona bening 12 mm (Naradala dkk, 2022). Perbedaan ini disebabkan pelepasan ion Cu yang lebih cepat dan dalam jumlah besar dari nanopartikel dibandingkan film (Longano dkk., 2011).

Tabel 3. Aktivitas antibakteri nanopartikel tembaga (CuNPs)

No	Reduktor	Zona Hambat		Referensi
		Bakteri Gram (-)	Bakteri Gram (+)	
1	<i>Ziziphus spinachristi</i>	<i>E.coli</i> (17 mm)	<i>S.aerus</i> (18 mm)	Khani dkk. (2018)
2	Trinatrium sitrat	<i>E.coli</i> (9,25 mm)	-	Saravanan dan Manivannan (2018)
3	<i>Cissus arnotiana</i>	<i>E.coli</i> (22,20 mm) <i>Rizhobium sp</i> (16,3 mm) <i>Klebsiella sp</i> (18,25 mm)	<i>S.aerus</i> (20,23 mm)	Rajeshkumar dkk. (2019)
4	<i>Allium sativum</i>	<i>E.coli</i> (20 mm)	<i>S.aerus</i> (13 mm)	Amatya dan Pradhan Joshi (2020)
5	<i>Zingiber officinale</i>	<i>E.coli</i> (9,63 mm)	<i>S.aerus</i> (8,27 mm)	Jahan dkk. (2020)
6	<i>Eryngium caucasicum</i>	<i>E.coli</i> (23,3 mm) <i>S.typhimurium</i> (23,1 mm)	<i>S.aerus</i> (21,3 mm) <i>B.cereus</i> (21,2 mm)	Hasheminya dan Dehghannya (2020)
7	<i>Citrus limon</i>	<i>E.coli</i> (25 mm)	<i>S.aerus</i> (20 mm)	Amer dan Awwad (2021)

2.6 Gliserol

Gliserol merupakan senyawa tidak berwarna, tidak berbau dan memiliki rasa manis dan tersusun dari rantai alkohol trihidrik dengan susunan molekul $C_3H_4O_3$. Gliserol merupakan *plasticizer* yang berfungsi untuk meningkatkan elastisitas dengan cara mengurangi derajat ikatan hidrogen dan meningkatkan jarak antara molekul dari polimer. Jumlah gliserol yang digunakan berbanding lurus dengan kelarutan di dalam air (Aripin dkk., 2017).

Gliserol dapat mengurangi kerapuhan campuran dengan meningkatkan fleksibilitas plastik karena kemampuannya untuk mengurangi ikatan hidrogen internal antara rantai polimer sambil meningkatkan volume molekul. Penambahan gliserol menyebabkan kekakuan molekul suatu polimer dihilangkan dengan menurunkan gaya antar molekul sepanjang rantai polimer. Molekul gliserol

berinteraksi di antara rantai polimer, sehingga memecah interaksi polimer-polimer, membuatnya lebih mudah bagi rantai polimer untuk bergerak melewati satu sama lain (Aripin dkk., 2017).

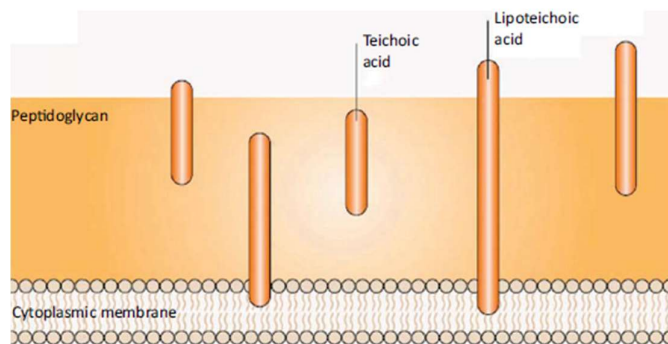
Aplikasi gliserol selain pada kemasan juga digunakan dalam berbagai industri. Aplikasi gliserol pada industri kosmetik seperti *body agent*, *emollient*, *humectant*, *lubricant*, *solven*, *skin cream*, *shampoo*, *conditioner* dan *detergen*. Selain bidang kosmetik, gliserol digunakan pula sebagai bahan peledak, industri makanan dan minuman (*emulsifier*, *freeze*, *preventer*, dan *coating*), industri kertas, industri farmasi, (antibiotik dan kapsul) dan industri fotografi (Selpiana dkk., 2016).

2.7 Bakteri Penyebab Penyakit

Bakteri penyebab infeksi dan penyakit banyak ditemui di lingkungan sekitar kita termasuk bakteri yang merupakan bakteri Gram-positif dan Gram-negatif (Magani dkk., 2020).

2.6.1 Bakteri Gram-positif

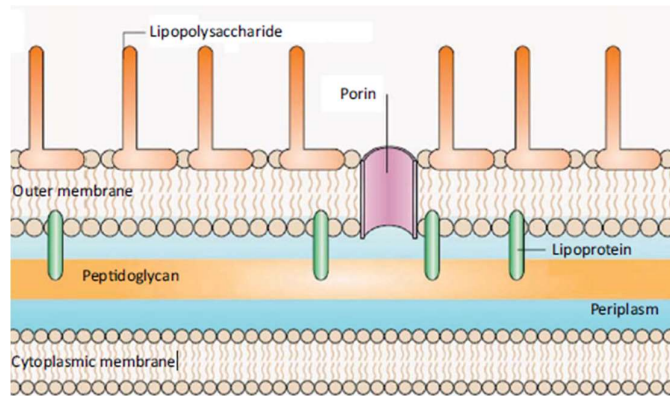
Bakteri Gram-positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal dan multilapisan di antara membran sitoplasma dalam. Struktur sel dari bakteri Gram-positif ditunjukkan pada Gambar 4. Bakteri Gram-positif cenderung lebih rentan terhadap antibiotik karena kurangnya membran luar yang memberikan resistensi terhadap antibiotik. Beberapa contoh bakteri Gram-positif meliputi *S.aureus*, *B.subtilis*, dan *S.epidermidis* (Cao dan Lin, 2021).



Gambar 4. Struktur sel bakteri Gram-positif (Hajipour dkk., 2012).

2.6.2 Bakteri Gram-negatif

Bakteri Gram-negatif memiliki dinding sel yang lebih kompleks secara struktur dan kimia. Bakteri Gram-negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis dan memiliki membran luar yang menutupi permukaan membran. Struktur sel dari bakteri Gram-negatif ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur sel bakteri Gram-negatif (Hajipour dkk., 2012)

Membran luar bakteri Gram-negatif sering memberikan resistensi terhadap senyawa hidrofobik dan mengandung lipopolisakarida yang meningkatkan muatan negatif membran sel dan sangat penting untuk integritas struktural dan viabilitas bakteri (Hajipour dkk., 2012). Contoh bakteri Gram-negatif adalah *E.coli*, *S.thypimurium*, dan *P.aeruginosa*.

2.8 Karakterisasi Kemasan Antibakteri

2.7.1 Ketebalan

Ketebalan film merupakan salah satu parameter fisik penting yang menentukan karakteristik suatu film. Ketebalan didefinisikan sebagai dimensi tegak lurus permukaan film yang diukur dengan alat mikrometer. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi ketebalan film, antara lain konsentrasi larutan polimer, penambahan *plasticizer*, laju evaporasi pelarut, teknik preparasi film, dan lain sebagainya (Moghadam dkk., 2020).

Ketebalan film dapat memengaruhi sifat film seperti sifat mekanik (kekuatan tarik dan *elongasi*), tingkat penyerapan dan desorpsi uap air, laju degradasi film, dan parameter pengemasan produk lainnya. Semakin tebal suatu film, kekuatan mekaniknya juga semakin meningkat, namun daya tembus cahaya akan berkurang. Laju degradasi film tebal juga lebih lambat karena memerlukan difusi air dan oksigen yang lebih lama untuk menembus film. Oleh karenanya, ketebalan film perlu dioptimalkan sesuai fungsi akhir film tersebut apakah untuk pengemasan, pelapis, ataupun aplikasi lainnya (Nigam dkk., 2021).

2.7.2 Densitas

Densitas merupakan salah satu karakteristik penting bioplastik yang menunjukkan kerapatan antar komponen penyusunnya (Nugrahanto dkk., 2021). Densitas biasanya dilambangkan dengan huruf Yunani *rho* (ρ) atau huruf d kecil. Secara matematis, densitas didefinisikan sebagai massa (m) dibagi volume (V). Satuan SI untuk densitas adalah kg/m^3 . Semakin besar nilai densitas suatu zat, semakin padat dan massif zat tersebut (Darni dkk., 2018).

Densitas dari suatu bahan plastik biodegradable secara umum dipengaruhi oleh komposisi bahan, proses produksi, suhu, dan tekanan. Semakin tinggi tekanan semakin tinggi densitasnya. Bioplastik membutuhkan densitas yang cukup tinggi agar bisa menggantikan peran plastik konvensional untuk kemasan makanan, farmasi, dan aplikasi lainnya (Nugrahanto dkk., 2021).

2.7.3 Kelarutan

Kelarutan bioplastik adalah kemampuan bioplastik untuk larut dalam pelarut tertentu seperti air atau pelarut organik. Kelarutan dipengaruhi oleh gugus fungsi dan ikatan silang pada rantai polimer bioplastik (Mustaqim dkk., 2021). Semakin banyak gugus hidrofilik seperti hidroksil dan karboksil, maka semakin tinggi kelarutan bioplastik dalam air. Sementara semakin banyak ikatan silang, maka kelarutan cenderung menurun. Beberapa faktor yang diketahui mempengaruhi kelarutan bioplastik antara lain struktur kimia, berat molekul, derajat kristalinitas, dan suhu pelarutan (Rhim dkk., 2000). Struktur kimia menentukan polaritas bioplastik yang mempengaruhi interaksi dengan pelarut. Berat molekul berbanding terbalik dengan kelarutan karena makin tinggi berat molekul, makin sulit pelarut menembus struktur bioplastik. Kristalinitas juga berbanding terbalik dengan kelarutan karena daerah kristalin sukar ditembus pelarut. Suhu pelarutan yang makin tinggi biasanya meningkatkan kelarutan bioplastik.

Kelarutan bioplastik sangat berpengaruh pada sifat mekanik, laju degradasi, dan kemudahan diolahnya bioplastik. Semakin tinggi kelarutan maka kekuatan mekanik cenderung menurun, laju degradasi meningkat, dan mudah diolah menjadi produk plastik (Siracusa dkk., 2008).

2.7.4 Sifat Mekanik

Sifat mekanik bioplastik meliputi *modulus young* (kekakuan), *elongasi* (perpanjangan saat putus), dan *tenstile strength* (kekuatan tarik) yang menentukan kemampuan bioplastik menahan beban tanpa patah. Semakin tinggi nilai ketiganya, semakin baik sifat mekanik bioplastik. *Modulus young* bioplastik dipengaruhi oleh derajat kristalinitas dan ikatan silang. Semakin tinggi keduanya, *modulus young* makin meningkat sehingga bioplastik semakin kaku dan rapuh. *Elongasi* tergantung pada fleksibilitas rantai polimer yang ditentukan berat molekul dan cabang rantai samping. Kekuatan tarik terkait dengan kekompakan dan keutuhan struktur bioplastik (Mustaqim dkk., 2021).

Sifat mekanik menentukan performa kemasan bioplastik saat pengepakan, penyimpanan, transportasi dan pemakaian produk. Bioplastik kemasan harus memiliki keseimbangan sifat rapuh, kaku dan kuat agar tidak rusak atau bocor selama perjalanan produk dari produsen ke konsumen (Siracusa dkk., 2008).

2.7.5 Sifat Morfologi

Bioplastik memiliki sifat morfologi berupa struktur permukaan, ukuran partikel, dan distribusi ukuran partikel. Struktur permukaan bioplastik berpengaruh pada sifat mekanik dan barrier. Ukuran dan distribusi ukuran partikel mempengaruhi sifat termal dan mekanik bioplastik (Frone dkk., 2013). Faktor yang mempengaruhi sifat morfologi bioplastik antara lain bahan baku, proses pembuatan, penambahan aditif, dan metode karakterisasi. Sifat morfologi berpengaruh pada sifat termal, mekanik, permeabilitas, dan degradabilitas bioplastik (Rhim dkk., 2013).

Cara menguji sifat morfologi bioplastik yaitu dengan SEM (Scanning Electron Microscope) untuk mengamati struktur permukaan dan porositas, dan *particle size analyzer* untuk mengukur ukuran dan distribusi ukuran partikel (Wang dkk., 2019).

2.7.6 Uji FTIR

Uji gugus fungsi bertujuan mengidentifikasi gugus fungsional penyusun bioplastik seperti gugus hidroksil, karboksil, dan amina. Gugus fungsional menentukan interaksi antar rantai polimer dan kompatibilitas bahan pengisi sehingga berpengaruh pada sifat mekanik dan termal bioplastik (Rhim dkk., 2000).

Faktor yang mempengaruhi gugus fungsi antara lain sumber bahan baku, proses ekstraksi dan modifikasi bahan baku, serta kompatibilisasi polimer. Perubahan gugus fungsi akan mempengaruhi interaksi antar komponen sehingga berdampak pada sifat mekanik dan stabilitas termal bioplastik. Cara uji gugus fungsi bioplastik yaitu dengan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR). Pita serapan pada bilangan gelombang tertentu menunjukkan jenis gugus fungsional pada bioplastik (Pacheco-Torgal, 2016).

2.7.7 Sifat Biodegradabilitas

Bioplastik atau plastik *biodegradable* merupakan plastik yang bisa terurai karena aktivitas mikroorganisme menjadi hasil akhir berupa karbondioksida dan air. Bioplastik dapat terurai habis tanpa meninggalkan sisa yang beracun, sehingga ramah terhadap lingkungan (Suryati dkk., 2017). Bioplastik memiliki struktur yang rapuh dan mudah terdegradasi dibandingkan plastik konvensional. Plastik yang termasuk dalam kriteria biodegradable, yaitu: *cellulose-based plastics*, *polylactic acid* (PLA), *starch-based plastics/thermoplastic starch* dan *polyhydroxyalkanoates* (PHA) (Wijayanti, 2018). *Biodegradabilitas* menunjukkan persentase antara bobot bioplastik sesudah didegradasi terhadap bobot bioplastik sebelum didegradasi (Suryati dkk., 2017).

Kata *biodegradable* tersusun dari kata *bio* (hidup), *degra* (terurai) dan *able* (dapat). Dengan demikian biodegradable merupakan plastik yang dapat terurai di lingkungan. Bioplastik dapat terdegradasi di lingkungan 10-20 kali lebih cepat dibandingkan plastik konvensional. Plastik konvensional dapat terurai di lingkungan sekitar 50 tahun, sedangkan plastik biodegradable dapat terurai di lingkungan 10 sampai 20 kali lebih cepat.

Syarat bioplastik bersifat biodegradable menurut Agnihotri dkk. (2020) adalah sebagai berikut:

1. produk harus terdiri dari minimal 50% bahan organik dan tidak boleh mengandung logam berat melebihi batas tertentu yang diizinkan,
2. produk harus hancur menjadi partikel yang tidak terlihat dengan mata telanjang (diameter < 2 mm) dalam 12 minggu dan harus terurai setidaknya 90% dalam 6 bulan dalam kondisi pengomposan yang terkedali,
3. setelah terdegradasi, plastik tidak boleh melepaskan racun atau bahan yang memberikan efek merugikan pada ekosistem.

Faktor yang mempengaruhi biodegradable menurut Agnihotri dkk. (2020) yaitu:

1. berat molekul: degradasi sebanding dengan berat molekul rendah,
2. struktur kimia: jadi struktur kimia yang kompleks dapat memperlambat degradasi,
3. interaksi dengan air: zat yang hidrofilik rentan terbiodegradasi dibandingkan hidrofobik,
4. kristalinitas: kristalinitas menghambat degradasi pada plastik.

2.7.8 Sifat Antibakteri

Uji aktivitas antimikroba secara umum dapat diklasifikasikan dalam 3 kelompok, yaitu :

1. Metode Difusi: metode ini dilakukan dengan meletakkan zat uji yang sebelumnya diserapkan pada cakram kertas saring atau ditempatkan pada media. Zat uji kemudian dibiarkan melakukan kontak dengan kultur mikroba uji. Metode ini tidak dapat digunakan untuk semua jenis mikroba misalnya mikroba dengan pertumbuhan lambat ataupun anaerob obligat (Mustapa, 2014).
2. Metode Dilusi: metode ini dilakukan dengan mencampurkan bahan uji dengan medium yang sesuai yang sebelumnya telah diinokulasi dengan bakteri uji Media yang digunakan dapat berupa media cair maupun media padat (Nugraheni, 2012). Metode ini dapat mendeteksi pola resistensi tertentu yang tidak terdeteksi pada metode difusi. Metode ini dapat digunakan untuk menetapkan Konsentrasi Hambatan Minimum (KHM) dari suatu senyawa aktif (Mustapa, 2014).
3. Metode Bioautografi: metode ini memungkinkan untuk dilakukan pencarian agen antibakteri baru secara cepat karena dapat melokalisasi efek antibakteri pada kromatogram. Metode ini melokalisasi aktivitas antibakteri pada kromatogram dengan tiga pendekatan yaitu bioautografi langsung (bakteri uji tumbuh langsung di atas pelat KLT), bioautografi kontak (senyawa antibakteri dipindahkan dari pelat KLT agar terinokulasi melalui kontak langsung), *Agar-overlay Bioautography* (agar yang terinokulasi diletakkan langsung pada pelat KLT) (Nugraheni, 2012).

2.9 Kerangka Konseptual

Provinsi Maluku Utara memiliki potensi perikanan yang melimpah, terutama ikan cakalang di daerah Pulau Ternate, Hiri, Maitara, dan Tidore. Ikan cakalang banyak dimanfaatkan sebagai konsumsi lokal dan bahan baku pembuatan ikan fufu atau ikan asap (Zulham dan Subaryono, 2017). Ikan fufu merupakan olahan ikan tradisional dengan teknik pengasapan untuk mempertahankan kualitas dan daya simpan. Teknik pengasapan dapat mengawetkan ikan karena pengurangan kadar air dan adanya senyawa kimia dalam asap seperti fenol yang menghambat pertumbuhan mikroba dan berperan sebagai antioksidan (Landangkasiang dkk., 2017).

Selain metode pengasapan, penggunaan kemasan yang tepat juga dapat melindungi makanan dari kontaminasi mikroba dan kontaminan lain yang dapat merusak produk pangan. Kemasan plastik konvensional banyak digunakan dalam industri pangan karena harganya yang murah, kuat, dan transparan. Namun, plastik konvensional tidak ramah lingkungan karena susah terdegradasi. Untuk mengatasi masalah ini, penggunaan kemasan *biodegradabel* dapat menjadi alternatif pengganti plastik karena memiliki waktu degradasi yang relatif singkat (Salim dkk., 2021).

Bahan baku kemasan *biodegradable* dapat diperoleh rumput laut yang mengandung banyak polisakarida seperti alginat, agar, karagenan, dan khususnya. Agarosa merupakan komponen utama dalam alga merah (*Rhodophyceae*). Agarosa mudah diekstraksi dari berbagai spesies alga merah seperti *Gelidium* dan *Gracilaria*. Nilai ekonomis agarosa terletak pada kemampuannya membentuk gel yang baik untuk berbagai aplikasi pangan dan farmasi. Agarosa juga telah diteliti untuk aplikasi dalam skala nano sebagai stabilisator nanopartikel logam sehingga banyak digunakan untuk mengembangkan sistem penghantaran obat (Kamsiati dkk., 2017; Mahmud dkk., 2021).

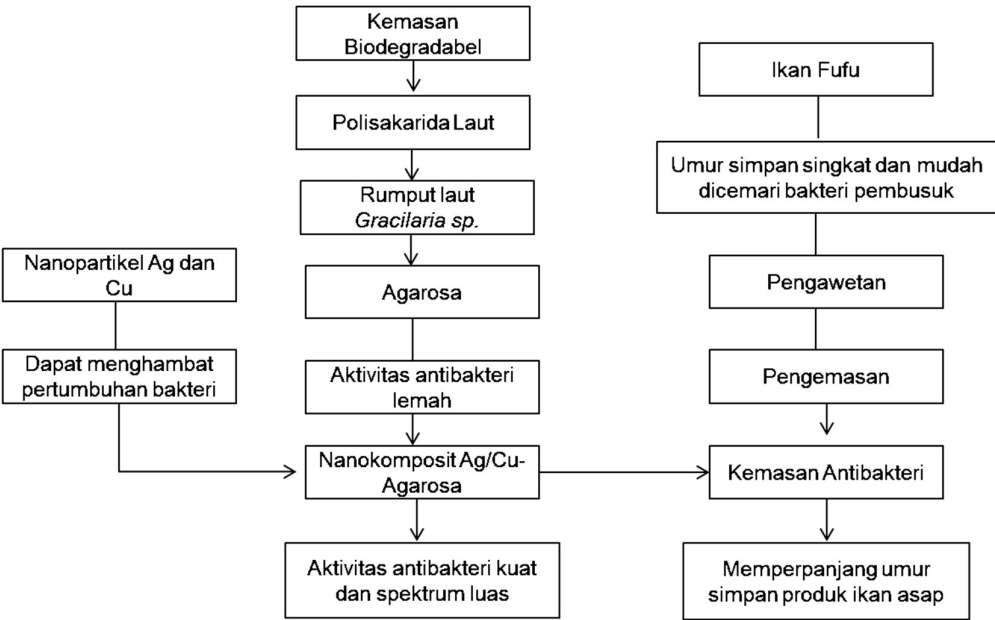
Penelitian sebelumnya telah dilakukan untuk mengembangkan kemasan *biodegradabel* berbasis agarosa dengan tambahan senyawa bioaktif sebagai agen antimikroba (Amanda dkk., 2020). Namun keterbatasan utama penelitian-penelitian ini adalah biokemasan yang dihasilkan umumnya memiliki aktivitas antimikroba yang relatif lemah dan kurang spesifik terhadap mikroorganisme target (Zarrintaj dkk., 2018).

Penggunaan nanopartikel logam seperti nanopartikel perak (AgNPs) dan nanopartikel tembaga (CuNPs) mampu meningkatkan aktivitas antimikroba bahan alami secara signifikan. Metode sintesis nanopartikel logam menggunakan bahan alami sebagai agen pereduksi dan stabilisator juga telah banyak dikembangkan.

Penggunaan agarosa sebagai template untuk mensintesis AgNPs dan CuNPs telah menunjukkan hasil yang baik. AgNPs dan CuNPs mampu berinteraksi dengan komponen sel mikroba dan menyebabkan kerusakan dinding sel, sehingga bersifat antibakteri terhadap berbagai spesies bakteri Gram-positif (*S. aureus*) dan Gram-negatif (*E. coli*) (Onofre-Cordeiro dkk., 2018; Usman dkk., 2013).

Rumput laut merah dari spesies *Gracilaria* merupakan salah satu sumber agarosa alami yang potensial. Rumput laut ini banyak dibudidayakan di Indonesia khususnya di Kabupaten Sinjai. Selain itu, *Gracilaria sp.* dipilih karena mengandung agarosa dan agaropektin dengan rasio 20:1, yang menjadikannya sumber agarosa yang baik (Abdul Khalil dkk., 2017). Namun penggunaan agarosa dari *Gracilaria sp.* sebagai bahan kemasan antimikroba masih jarang diteliti.

Berdasarkan paparan di atas, penelitian agarosa dari *Gracilaria sp.* sebagai template nanopartikel logam untuk aplikasi kemasan antibakteri dianggap menarik dan belum banyak dilakukan. Kelebihan isolasi agarosa *Gracilaria sp.* secara lokal diharapkan mampu menghasilkan kemasan yang memiliki sifat antibakteri dan ekonomis dibanding penggunaan agarosa komersial. Penggabungan agarosa dengan AgNPs atau CuNPs berpotensi menghasilkan kemasan dengan aktivitas antimikroba yang lebih tinggi. Penelitian lebih lanjut mengenai sifat mekanik dan uji aktivitasnya terhadap bakteri target seperti *E. coli* dan *S. aureus* perlu dilakukan untuk mengkonfirmasi potensi aplikasinya. Kerangka konseptual penelitian ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Kerangka Konseptual Penelitian

2.10 Hipotesis

1. Agarosa yang diisolasi dari rumput laut *Gracilaria sp.* memiliki kualitas yang mirip dengan agarosa komersial dan berpotensi dimanfaatkan sebagai bahan baku sintesis nanokomposit Ag/Cu-Agarosa.
2. Nanokomposit Ag/Cu-Agarosa memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri patogen.
3. Nanokomposit Ag/Cu-Agarosa berpotensi untuk diaplikasikan sebagai bahan kemasan antibakteri pada produk pangan.