

**SELULOSA BAKTERI DARI LIMBAH AIR CUCIAN BERAS DENGAN
PENAMBAHAN KITOSAN, GLISEROL, DAN NANOPARTIKEL PERAK**

**BACTERIAL CELLULOSE FROM RICE WASTE WATER WITH ADDITION
CHITOSAN, GLYCEROL, AND SILVER NANOPARTICLE**

Eli Rohaeti^{1*}, Endang WLFX¹, Anna Rakhmawati²

¹Jurusan Pendidikan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta,
Indonesia

²Jurusan Pendidikan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta,
Indonesia

*email : eli_rohaeti@uny.ac.id; rohaetieli@yahoo.com

Received 25 January 2016; Accepted 28 April 2016; Available online 16 May 2016

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mempreparasi nanopartikel perak secara kimia, mendeposit nanopartikel perak terhadap komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol berbasis limbah cucian beras, serta menguji aktivitas antibakteri dari selulosa bakteri dan kompositnya. Preparasi nanopartikel perak dilakukan dengan metode reduksi kimia dari larutan perak nitrat dan tri-sodium sitrat sebagai pereduksi. Selulosa bakteri dari air cucian beras difermentasikan oleh bakteri *Acetobacter xylinum* selama 7 hari. Selulosa bakteri yang telah kering dikompositkan dengan kitosan-gliserol dengan metode pencelupan pada larutan kitosan 2% dan larutan gliserol 0,5%. Spektroskopi UV-Vis digunakan untuk mengetahui terbentuknya nanopartikel perak serta *Particle Size Analyzer* untuk menguji ukuran dan distribusi ukuran partikel. Karakterisasi terhadap selulosa bakteri dan kompositnya meliputi gugus fungsi dengan *Fourier Transform Infra-red* (FTIR), sifat mekanik dengan *Tensile Tester*, kristalinitas dengan *X-Ray Diffraction* (XRD), foto permukaan dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM), serta uji antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dengan metode *shake flask turbidimetry*. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa nanopartikel perak terbentuk pada panjang gelombang 421,80 nm, berwarna kuning, dan memiliki ukuran partikel dengan diameter 61,8 nm. Foto SEM menunjukkan bahwa permukaan selulosa bakteri telah terdeposit nanopartikel perak serta hasil uji antibakteri menunjukkan adanya efek penghambatan dari selulosa bakteri dan komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol yang dideposit nanopartikel perak terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) dan *Escherichia coli* (*E. coli*).

Kata Kunci : air cucian beras, aktivitas antibakteri, komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol, nanopartikel perak.

ABSTRACT

This study aimed to prepare silver nanoparticles chemically, deposit silver nanoparticles on bacterial cellulose-chitosan-glycerol composite based rice waste water, as well as test the antibacterial activity of bacterial cellulose and its composite. Preparation of silver nanoparticles was conducted by chemical reduction of silver nitrate solution, as well as tri-sodium citrate as the reductor. Bacterial cellulose from rice waste water is fermented by the bacteria *Acetobacter xylinum* for 7 days. The dried bacterial cellulose was composited with chitosan and glycerol by immersion method on 2% of chitosan solution and 0.5% of glycerol solution. UV-Vis spectroscopy is used to determine the formation of silver

nanoparticles and Particle Size Analyzer to test the size and particle size distribution. Characterization was conducted to bacterial cellulose and its composite included functional groups by FTIR, the mechanical properties by Tensile Tester, crystallinity by XRD, surface photograph by SEM, and antibacterial test against *S. aureus* and *E. coli* by the shake flask turbidimetry method. Silver nanoparticle characterization indicated that silver nanoparticles are formed at a wavelength of 421.80 nm, yellow, diameter particle size of 61.8 nm. SEM images showed that the surface of bacterial cellulose had deposited silver nanoparticles and antibacterial test showed an inhibitory effect of bacterial cellulose, bacterial cellulose-chitosan composite, and bacterial cellulose-chitosan-glycerol composite which are deposited silver nanoparticles against the growth of *S. aureus* and *E. coli* bacteria.

Keywords : antibacterial activity, bacterial cellulose-chitosan-glycerol composite, , rice waste water, silver nanoparticle.

PENDAHULUAN

Latar belakang dari penelitian yang dilakukan adalah adanya keterbatasan dan mahalnya material biomedis yang dapat digunakan. Namun, beberapa literatur mengungkapkan bahwa selulosa bakteri menunjukkan kinerja cukup baik untuk dapat digunakan dalam keperluan biomedis seperti untuk penyembuhan luka, dengan sifat hidrofilitas yang tinggi sehingga dapat digunakan sebagai pembuluh darah buatan, bersifat non-alergenik, dan dapat disterilisasi tanpa mempengaruhi karakteristik material tersebut (Tabaï & Emtiazi, 2016). Namun demikian, serat selulosa merupakan media yang sangat baik untuk pertumbuhan mikroorganisme. Senyawa perak digunakan untuk mengatasi masalah tersebut. Antimikroba partikel perak dipengaruhi oleh ukuran partikel. Semakin kecil ukuran partikel semakin besar efek antimikroba yang dihasilkan (Olszynski, Prywer, & Torzewska, 2015; (Singh, Panghal, Kadyan, Chaudhary, & Yadav, 2014). Nanopartikel perak umumnya lebih kecil dari 100 nm dan mengandung perak sebanyak 20 – 15000 atom (Franci et al., 2015).

Limbah rumah tangga berupa air cucian beras dapat dibuat nata melalui penambahan sukrosa, urea, dan asam asetat sebagai pemberi suasana. Nata yang dihasilkan ternyata merupakan polimer selulosa diperkuat oleh difraktog XRD,

spektrum IR, dan pengamatan permukaan dengan SEM (Pratomo and Rohaeti, 2011). Mikroorganisme yang dapat menghasilkan selulosa tersebut adalah *acetobacter*. *Acetobacter* merupakan bakteri yang digunakan untuk menghasilkan cuka. Seringkali ditemukan membran yang menyerupai gel berupa film pada permukaan media kultur ketika proses produksi cuka berlangsung. Setelah diidentifikasi material ini dikenal sebagai selulosa bakteri (Tabaï & Emtiazi, 2016).

Selulosa bakteri yang diperoleh dapat digunakan untuk merawat penderita gagal ginjal dan sebagai kulit pengganti sementara untuk merawat luka bakar. Selulosa juga dapat diimplantasikan ke dalam tubuh manusia dalam bentuk benang jahit yang digunakan dalam pembedahan. Selulosa bakteri memiliki struktur kimia sama seperti selulosa yang berasal dari tumbuhan, namun selulosa bakteri memiliki keunggulan antara lain kemurnian tinggi, derajat kristalinitas tinggi, kekuatan tarik tinggi, elastis, dan terbiodegradasi (Czaja, Young, Kawecki, & Brown, 2007).

Pemanfaatan limbah rumah tangga sebagai media untuk pembentukan *selulosa bakteri* untuk keperluan medis khususnya sebagai material penutup luka belum banyak diteliti. Dengan demikian perlu dilakukan penelitian tentang pemanfaatan limbah rumah tangga berupa limbah air cucian beras media dalam pembentukan selulosa bakteri. Material

biomedis lebih berkualitas dapat diperoleh melalui penambahan kitosan ke dalam media kultur pembentukan selulosa (Maneerung, Tokura, & Rujiravanit, 2008).

Kitosan dalam bentuk larutan dan gel, dapat digunakan sebagai bakteriostatik, fungistatik, dan bahan untuk pelapis. Serat kitosan telah digunakan sebagai benang jahit dalam pembedahan yang dapat diserap oleh tubuh manusia, sebagai perban penutup luka, dan sebagai carrier obat-obatan. Kitosan juga mempengaruhi proses pembekuan darah sehingga dapat digunakan sebagai haemostatik.

Adanya sifat-sifat unggul dari selulosa bakteri dan kitosan maka dapat dibuat suatu bahan komposit yang mengalami interaksi antara bagian molekul kitosan (unit glukosamin dan N-asetilglukosamin) dengan rantai selulosa yang dihasilkan (Ciechanska, Wietecha, Kazmierczak, & Kazmierczak, 2010). Namun demikian, selulosa merupakan media yang sangat baik untuk tumbuhnya mikroorganisme, karena area permukaan cukup luas dan adanya kemampuan selulosa untuk menjaga kelembaban. Untuk mengatasi masalah tersebut, banyak bahan kimia yang telah digunakan. Aktivitas antimikroba pada serat selulosa, seperti senyawa perak telah banyak digunakan karena memiliki spektrum yang luas dari aktivitas antibakteri menunjukkan toksisitas yang rendah terhadap sel mamalia.

Untuk memperbaiki sifat antibakteri dari material selulosa tersebut dilakukan aplikasi nanopartikel perak pada selulosa bakteri dan komposit selulosa bakteri – kitosan. Pada skala nano, partikel perak memiliki sifat fisik, kimia, dan sifat biologis yang khas, serta aktivitas antibakteri (Singh et al., 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan limbah air cucian beras dalam pembentukan selulosa bakteri oleh *Acetobacter xylinum*, mempelajari pengaruh penambahan kitosan dan gliserol

sebagai pemlastis terhadap karakteristik biomaterial komposit selulosa bakteri – kitosan, melakukan preparasi dan deposit nanopartikel perak serta mempelajari pengaruh aplikasi nanopartikel perak terhadap sifat antibakteri material selulosa bakteri dan kompositnya.

Berdasarkan latar belakang, maka permasalahan dalam penelitian ini meliputi: pengaruh penggunaan limbah air cucian beras terhadap keberhasilan pembentukan selulosa bakteri oleh *Acetobacter xylinum*, pengaruh penambahan kitosan dan gliserol sebagai pemlastis terhadap karakteristik biomaterial komposit selulosa bakteri, keberhasilan preparasi nanopartikel perak, serta pengaruh aplikasi nanopartikel perak terhadap sifat antibakteri dari material selulosa bakteri dan kompositnya.

METODE

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini, meliputi instrumen FT-IR model Shimadzu prestige 21, Universal Testing Machine Zwick Z 0.5, Dumb Bell Ltd Japan Saitama Cutter SOL-100, Mitotuyo MT-365 dial Thickness Gage 2046F, nampan Lionstar®, oven Memmert BE-500, autoklaf, alat-alat gelas, SEM Jeol JSM T300 dan SEM Phenom, neraca digital Mettler Toledo BV, Fine Coat Ion Sputter model JGC 1100, pH stik Merck®, kertas pembungkus, hot plate, termometer, *magnetic stirrer*, alat XRD Jeol, alat UV-Vis, serta alat *Particle Size Analyzer* (BATAN Bandung).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi limbah air cucian beras, kitosan teknis dari PT Bratachem, urea teknis, asam asetat glasial, gliserol p.a., silica gel, gula pasir, aquades, gelatin p.a., NaOH p.a., HCl 37%, dan bakteri *Acetobacter xylinum*, *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli* diperoleh dari Teknologi Pertanian UGM.

Prosedur Penelitian

Pembuatan selulosa bakteri dengan media air cucian beras (SB)

Limbah air cucian beras disiapkan dengan cara menampung 0,5 kg beras dalam baskom lalu diberi air 500 mL. Beras diaduk-aduk hingga air menjadi keruh. Air yang keruh ini diambil dan digunakan pada tahap selanjutnya. Sebanyak 100 mL air limbah air cucian beras hasil penyaringan dimasukkan ke dalam gelas beaker yang telah dilengkapi dengan *magnetic stirrer*, ditambahkan 10 g gula pasir dan 0,5 g urea, selanjutnya diaduk hingga larut. Campuran diasamkan dengan penambahan CH_3COOH 25% hingga pH = 4, diaduk sambil dipanaskan. Campuran yang diperoleh dituangkan dalam keadaan panas ke dalam wadah fermentasi yang telah disterilkan dan ditutup. Kemudian dibiarkan hingga suhu kamar, lalu ditambahkan 20 mL *Acetobacter xylinum*. Berikutnya dilakukan fermentasi selama 12 jam pada suhu kamar. Lapisan pelikel yang terbentuk dicuci dengan aquades panas, NaOH sebanyak 2 kali selama masing-masing 24 jam lalu dinetralkan dengan HCl selama 24 jam, dan aquades. Setelah itu hasil pencucian dikeringkan di dalam oven pada suhu 35 – 45 °C.

Pembuatan komposit selulosa bakteri-kitosan dengan penambahan pemlastis berupa larutan gliserol 0,5% (SBKG)

Sebanyak 100 mL air limbah air cucian beras hasil penyaringan dimasukkan ke dalam gelas beaker yang telah dilengkapi dengan *magnetic stirrer*, ditambahkan 10 g gula pasir dan 0,5 g urea, selanjutnya diaduk hingga larut. Campuran diasamkan dengan penambahan CH_3COOH 25% hingga pH = 4. Selanjutnya dilakukan penambahan 0,2 g kitosan, diaduk hingga larut kemudian ditambahkan 0,5 g gliserol, diaduk sambil dipanaskan. Kemudian campuran yang diperoleh dituangkan dalam keadaan panas ke dalam wadah fermentasi yang telah disterilkan dan

ditutup. Campuran yang diperoleh dibiarkan hingga suhu kamar, lalu ditambahkan 20 mL *Acetobacter xylinum*. Selanjutnya dilakukan fermentasi selama 12 jam pada suhu kamar. Lapisan pelikel yang terbentuk dicuci dengan aquades panas, NaOH sebanyak 2 kali selama masing-masing 24 jam lalu dinetralkan dengan HCl selama 24 jam, dan aquades. Setelah itu hasil pencucian dikeringkan dalam oven pada suhu 35 – 45 °C.

Karakterisasi sifat fisika dan kimia material selulosa bakteri dan komposit selulosa bakteri-kitosan dengan penambahan pemlastis.

Karakterisasi yang dilakukan meliputi penentuan gugus fungsi dengan IR dan intensitas serapan -NH dan -OH dengan metode *baseline*, sifat mekanik berupa kuat putus, perpanjangan saat putus dan modulus *Young*, morfologi permukaan dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM), serta penentuan persen kristalinitas dengan cara membandingkan luas daerah kristalin dengan luas daerah seluruhnya (kristalin + amorf).

Preparasi dan karakterisasi nanopartikel perak dengan metode reduksi menggunakan trisodium sitrat.

Sebanyak 250 mL larutan perak nitrat 10^{-3}M dan gelatin 1% dimasukkan ke dalam labu leher tiga kemudian direfluks sampai suhu 85 °C sambil dilakukan pengadukan. Gas nitrogen dialirkan dan ditambahkan tri-sodium sitrat tetes demi tetes ke dalam larutan pada suhu sekitar 90 °C sampai larutan berwarna kuning. Proses dihentikan, kemudian dilakukan pengadukan tetap sampai larutan mencapai suhu kamar. Nanopartikel perak yang terbentuk selanjutnya dikarakterisasi. Keberhasilan terbentuknya nanopartikel perak ditentukan dengan teknik karakterisasi menggunakan *UV/Visible Absorption Spectrophotometer* dan *Particle Size Analyzer*.

Deposit nanopartikel perak pada selulosa bakteri dan komposisinya.

Potongan selulosa bakteri dan komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol dimasukkan ke dalam nanopartikel perak kemudian dipusingkan dengan *shaker* selama 60 menit dengan kecepatan 145 rpm. Selulosa bakteri dan komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol dikeringkan dan dibalut dengan plastik sebelum dikarakterisasi sifat antibakteri dan morfologi permukaan.

Uji aktivitas antibakteri selulosa bakteri dari limbah air cucian beras dan komposisinya tanpa dan dengan deposit nanopartikel perak terhadap bakteri S. aureus dan E.coli dengan metode turbidimetri.

a. Pembuatan media agar miring

Media yang digunakan untuk pertumbuhan mikroorganisme berupa nutrisi agar (NA). Media NA dibuat dengan menimbang 2,8 g NA. NA dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 200 mL dan ditambahkan akuades hingga 100 mL. Larutan dipanaskan di atas hot plate selama 1 menit sampai mendidih agar terbentuk larutan homogen. Larutan NA sebanyak 6 mL dituangkan ke dalam tabung reaksi. Larutan disterilkan dengan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit, kemudian dibiarkan beberapa saat. Selanjutnya agar miring dibiarkan hingga memadat.

b. Penanaman bakteri uji pada media agar miring

Inokula diambil dengan jarum ose bundar. Bakteri diinokulasikan pada media dengan cara digores rapat secara zig-zag dari bawah sampai atas media miring. Biakan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.

c. Pembuatan media cair LB (Luria Bertani)

Media LB dibuat dengan menimbang 2,25 g NaCl; 1,5 g yeast ekstrak ; serta 3 g glukosa menggunakan neraca analitik. Masing-masing komponen dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 200

mL, kemudian ditambah akuades hingga volume 150 mL. Semua komponen dilarutkan menggunakan stirrer agar diperoleh larutan homogen. Media cair LB disterilkan dengan memasukkan ke dalam autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit.

d. Penanaman bakteri uji pada media cair

Bakteri yang telah ditumbuhkan pada media agar, diambil satu koloni menggunakan ose steril. Koloni bakteri dimasukkan ke dalam media cair yang telah disiapkan. Kultur diinkubasi selama 12 jam dan digoyang dengan kecepatan 100 rpm.

e. Pemberian selulosa bakteri, komposit selulosa bakteri-kitosan dan komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol pada kultur bakteri uji

Mikroorganisme *E. coli* dan *S. aureus* yang sudah ditumbuhkan pada media cair LB diambil sebanyak 4 mL dan dimasukkan ke dalam media cair yang baru dengan volume 40 mL. Potongan selulosa bakteri yang sudah dilapisi nanopartikel perak dimasukkan ke dalam kultur bakteri. Perlakuan yang sama dilakukan untuk komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol yang dideposit nanopartikel perak maupun yang tidak. Kultur bakteri yang mengandung potongan selulosa bakteri digoyang dengan kecepatan 200 rpm. Sebanyak 3 mL kultur diambil selang waktu 3 jam selama 1 hari. Pengukuran selanjutnya dilakukan setiap selang 1 hari selama 7 hari. *Optical Density* kultur sel diukur pada λ 610 nm menggunakan spektrometer UV-VIS. Pengukuran OD kultur bakteri yang mengandung potongan selulosa bakteri dengan massa sama dilakukan secara triplo.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sifat Fisik Selulosa Bakteri

Tabel 1 menunjukkan sifat fisik selulosa bakteri (SB) dan komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol (SBKG) berbasis limbah air cucian beras.

Tabel 1. Sifat Fisik Selulosa Bakteri dari Limbah Cucian Beras dan Kompositnya

Parameter	SB	SBKG
Massa basah (g)	132,25	122,40
Massa kering (g)	7,26	4,58
% <i>Yield</i> Basah	66,13	61,20
% <i>Yield</i> Kering	3,63	2,29
Transparansi	Transparan	Transparan
Warna	Putih	Kuning muda
Bau	Tidak berbau	Asam
Tekstur	Lunak, berair	Kaku, kering

Selulosa bakteri memiliki warna putih, sedangkan komposit SBKG cenderung berwarna kuning muda. Bau SBKG cukup asam dikarenakan pelarut yang digunakan dalam pembuatan larutan kitosan adalah asam asetat.

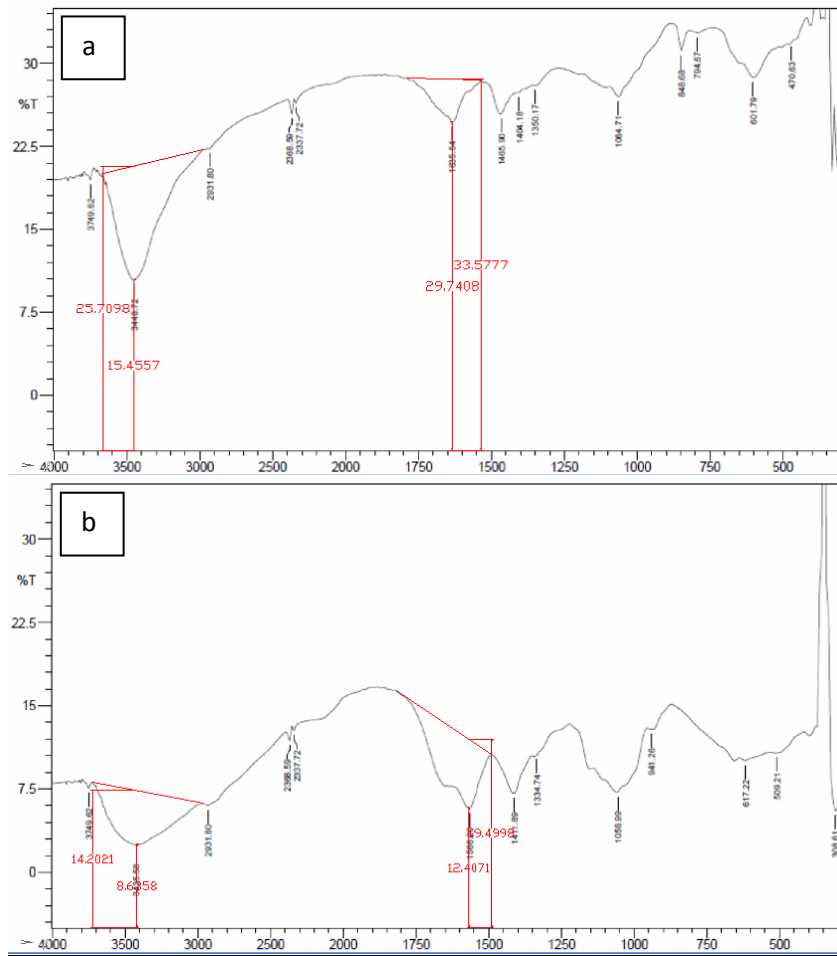
Tabel 1 menunjukkan bahwa selulosa bakteri mampu mengikat air hampir 99% sesuai yang dilaporkan (Lina, Yue, Jin, & Guang, 2011). Massa kering selulosa bakteri jauh lebih tinggi daripada SBKG. Hal tersebut disebabkan karena SB mampu menyerap air lebih banyak dibandingkan dengan selulosa yang telah ditambah dengan kitosan dan gliserol. Kitosan yang ditambahkan akan menyebabkan penurunan terhadap absorpsi air (Kuusipalo, Kaunisto, Laine, & Kellomaki, 2005; Sobahi, Abdelaal, & Makki, 2014). Peristiwa tersebut dapat dijelaskan karena kitosan yang ditambahkan mampu masuk ke dalam pori-pori selulosa bakteri dan melapisi permukaan selulosa bakteri sehingga air yang berada di udara tidak dapat masuk. Kemungkinan lain disebabkan karena kitosan berinteraksi hidrogen dengan gugus -OH pada selulosa sehingga air yang ada di lingkungan tidak dapat mengikat hidrogen, namun tidak sepenuhnya selulosa-kitosan-gliserol kering karena air juga masih mampu berinteraksi dengan kitosan melalui ikatan hidrogen.

Gugus Fungsi Selulosa Bakteri

Hasil analisis gugus fungsi dengan FTIR menunjukkan adanya puncak pada daerah sekitar bilangan gelombang

1635,64 cm^{-1} yang menunjukkan adanya cincin aromatik pada SB namun pada SBKG terdapat pada 1566,20 cm^{-1} yaitu vibrasi gugus amino yang merupakan karakteristik dari kitosan serta kemungkinan adanya *overlapping* dengan absorpsi cincin aromatik (**Gambar 1**). Adanya peningkatan intensitas ikatan gugus NH_2 (daerah 1566,20 cm^{-1}) dan melebarnya *peak* NH_2 (daerah 3425,58 cm^{-1}) pada SBKG dapat dikaitkan dengan penurunan elongasi pada analisis mekanik biomaterial SBKG. Gugus fungsi yang dihasilkan sejalan dengan penelitian Anicuta, Dobre, Stroesca & Jipa (2010). Serapan karakteristik tersebut diduga tumpang tindih dengan serapan cincin aromatik pada bilangan gelombang 1566,20 cm^{-1} , karena secara teori selulosa dan kitosan memiliki cincin aromatik. Penambahan kitosan yang memiliki gugus C=O pada siklik piran serta kemungkinan sisa kitin yang tidak terdeasetilasi akan meningkatkan serapan pada 1566,20 cm^{-1} .

Hasil perhitungan intensitas spektra inframerah (**Tabel 2**) menggunakan metode *baseline* menunjukkan adanya peningkatan intensitas ikatan gugus NH_2 (daerah 1566,20 cm^{-1}) dan melebarnya *peak* NH_2 (daerah 3425,58 cm^{-1}) serta terlihat penurunan intensitas serapan -OH pada SBKG. Hal ini disebabkan adanya ikatan hidrogen terbentuk antara kitosan dengan selulosa mengakibatkan penurunan intensitas -OH (Li et al., 2015). Selain itu, dapat juga disebabkan adanya tumpang tindih antara $-\text{NH}_2$ kitosan dengan -OH sehingga mengakibatkan pelebaran spektra.



Gambar 1. Spektra FTIR (a). Selulosa Bakteri; (b). Komposit Selulosa Bakteri-Kitosan-Glislerol

Tabel 2. Intensitas Serapan SB dan SBKG

Jenis Sampel	Bilangan gelombang (1/cm)	I _o	I	(A = log I _o /I _t)
SB	3448,72	25,7098	15,4557	0,2210
	1635,64	33,5777	29,7408	0,0537
SBKG	3425,58	14,2021	8,6380	0,2159
	1566,20	19,4998	12,4071	0,1964

Sifat Mekanik Selulosa Bakteri

Sifat mekanik selulosa bakteri dari limbah cucian beras ditunjukkan pada **Tabel 3**. Hasil tersebut menunjukkan perbedaan *tensile strength* dan elongasi dari tiap-tiap selulosa. Selulosa bakteri (SB) memiliki *tensile strength* yaitu 22,48 MPa, sedangkan pada selulosa yang ditambah kitosan dan gliserol (SBKG) memiliki *tensile strength* yaitu 17,01 MPa. Penurunan *tensile strength* ini dikarenakan sifat gliserol sebagai *plasticizer* yang membuat rigiditas dari

bahan menurun. Akibat penurunan rigiditas bahan ini menurunkan *tensile strength* dari SBKG. Hasil tersebut sesuai dengan (Zhong & Xia, 2008) yang menguji sifat fisika kimia suatu film yang ditambahkan dengan gliserol sebagai pemlastis dan penelitian yang menguji penambahan gliserol terhadap sifat *tensile* dari *Bombyx mori* film (Zhang et al., 2011). Kedua penelitian itu menyatakan bahwa penambahan gliserol dapat menyebabkan penurunan *tensile strength*.

Tabel 3. Sifat Mekanik SB dan SBKG

Sampel	Tensile strength (MPa)	Elongasi (%)
SB	22,48	22,18
SBKG	17,01	8,01

Penurunan ini disebabkan berkurangnya interaksi intermolekuler ikatan polimer kemudian digantikan dengan interaksi dengan gliserol mengakibatkan sifat dari polimer menjadi lebih elastis namun rapuh.

Penyebab lain penurunan *tensile strength* dari komposit selulosa-kitosan-gliserol adalah karena kitosan memiliki sifat amorf yang tinggi, sedangkan selulosa memiliki kristalinitas yang tinggi. Suatu bahan yang strukturnya kuat karena kristalinitas tinggi akan memiliki daya tahan terhadap tekanan lebih tinggi, dibandingkan bahan yang strukturnya tidak beraturan dan memberikan banyak ruang di sekitarnya (Chargot, Cybulska, & Zdunek, 2011). Penambahan sifat amorf ke dalam bahan yang memiliki kristalinitas yang tinggi akan membuat senyawa yang mulanya *crystalline* menjadi *semi-crystalline* sehingga banyak ruang-ruang kosong yang muncul menyebabkan kekuatan terhadap tekanan menjadi berkurang.

Selulosa bakteri memiliki *tensile strength* lebih tinggi daripada komposit selulosa-kitosan-gliserol, hal ini dapat disebabkan banyaknya ikatan intermolekuler dalam selulosa bakteri. Korelasi antara peningkatan ikatan intermolekuler berupa ikatan hidrogen dengan *tensile strength* menunjukkan bahwa semakin banyaknya ikatan hidrogen akan meningkatkan *tensile strength* (Liu, Gao, Dong, Ye, & Gu, 2009; Tien, 2010). Selain itu, meningkatnya densitas suatu bahan dan menurunnya kandungan air dalam suatu bahan akan meningkatkan *tensile strength* (Tang, Wang, Cui, Shi, & Li, 2016). Hal ini dapat menjadi suatu kemungkinan terjadi peningkatan densitas dalam selulosa bakteri sehingga *tensile strength* lebih tinggi dari komposit selulosa-

kitosan-gliserol. Secara statistik, nilai *tensile strength* selulosa bakteri berbeda bermakna dengan komposit selulosa-kitosan-gliserol.

Dengan penambahan kitosan terjadi penurunan elongasi sangat signifikan. Film *corn starch* terjadi ikatan intermolekuler berupa ikatan hidrogen (Rechia, Morona, Zepon, Soldi, & Kanis, 2010). Ikatan tersebut dapat menurunkan elongasi. Kemungkinan penurunan elongasi ini karena ikatan hidrogen menyebabkan pembentukan suatu susunan kristal yang rigid dan kuat sehingga keelastisan dari bahan akan menurun. Alasan ini didasarkan atas gliserol yang memberikan efek elongasi dengan merusak ikatan intermolekuler pada selulosa sehingga menghasilkan struktur yang kurang rigid (Yunos & Rahman, 2011). Sebaliknya, jika ikatan intermolekuler pada selulosa semakin banyak akibat penambahan kitosan, maka dapat dikatakan bahwa elongasi pada selulosa akan menurun. Secara statistik, nilai elongasi komposit SBKG berbeda bermakna dengan sampel SB.

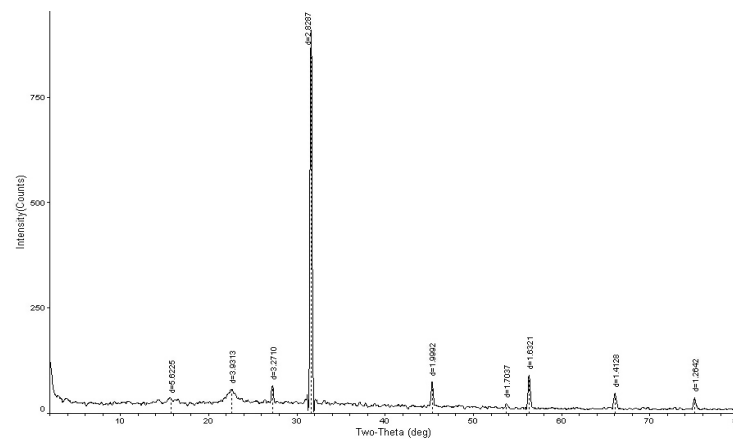
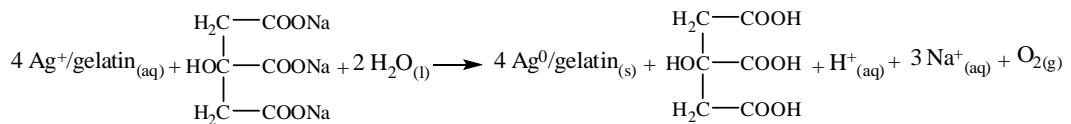
Kristalinitas Selulosa Bakteri

Berdasarkan difraktogram XRD selulosa dan selulosa gliserol kitosan berbasis limbah cucian beras, dilakukan perhitungan derajat kristalinitas masing-masing sampel. Selulosa memiliki derajat kristalinitas sebesar 73,65%, sedangkan selulosa yang ditambahkan gliserol dan kitosan memiliki derajat kristalinitas sebesar 50,15% (**Gambar 2**).

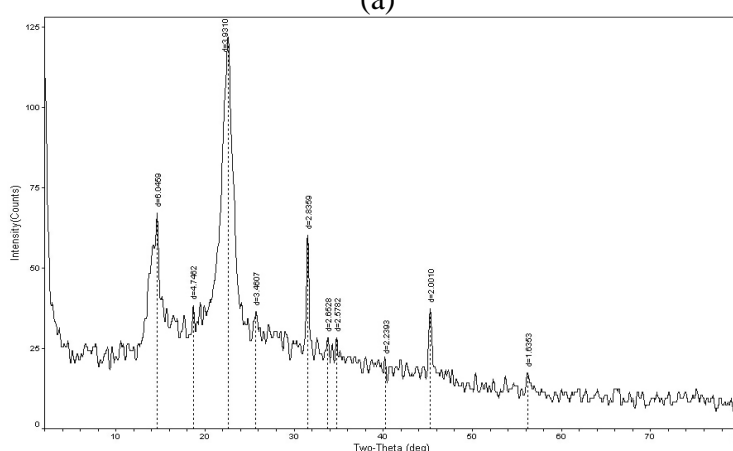
Hal ini menunjukkan bahwa kitosan yang ditambahkan menyebabkan penurunan derajat kristalinitas dari selulosa. Penurunan yang terjadi sesuai dengan teori bahwa kitosan memiliki sifat amorf (Fernandes et al., 2009), sedangkan selulosa memiliki sifat kristalin yang

tinggi. Adanya sifat amorf yang masuk ke dalam selulosa menyebabkan terjadinya penurunan kristalinitas (Chargot, et al., 2011). Penurunan derajat kristalinitas berdampak pada sifat mekanik selulosa. Selulosa yang memiliki derajat kristalinitasnya rendah cenderung memiliki *tensile strength* yang rendah, dibuktikan dengan hasil *tensile strength* pada selulosa kitosan gliserol dan selulosa gliserol. **Gambar 3** menunjukkan spektrum UV-Vis untuk ion perak dan nanopartikel perak hasil reduksi dengan trisodium sitrat 1% disertai pengaliran gas nitrogen selama reaksi. Keberadaan ion perak ditunjukkan oleh puncak absorpsi

pada 216 nm. Setelah ion perak tereduksi menjadi nanopartikel perak terlihat sebagai puncak absorpsi baru pada 421,80 nm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa nanopartikel perak telah berhasil dipreparasi. Namun demikian pada spektrum UV-Vis nanopartikel perak masih terlihat adanya puncak serapan pada sekitar 206 nm, hal ini dapat disebabkan oleh sebagian ion perak yang belum tereduksi serta kemungkinan lain karena nanopartikel perak yang terbentuk bereaksi dengan proton yang dihasilkan membentuk kembali ion perak sebagai reaksi kesetimbangan, seperti ditunjukkan oleh reaksi berikut.

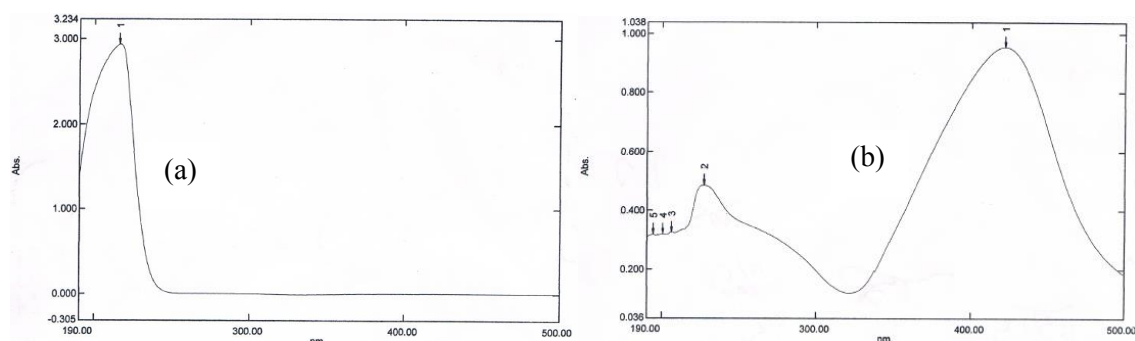


(a)



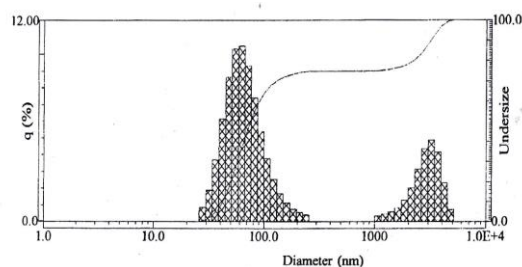
(b)

Gambar 2. Difraktogram XRD (a) Selulosa Bakteri dan (b) Selulosa Bakteri-Gliserol-Kitosan



Gambar 3. Spektra UV-Vis (a). Larutan Perak Nitrat dan (b). Nanopartikel Perak

Berdasarkan hasil pengujian ukuran dan distribusi ukuran partikel ditunjukkan bahwa nanopartikel perak hasil reduksi dari larutan perak nitrat dengan reduktor trisodium sitrat memiliki ukuran partikel dengan median 74,8 nm dan modusnya 61,8 nm (**Gambar 4**).

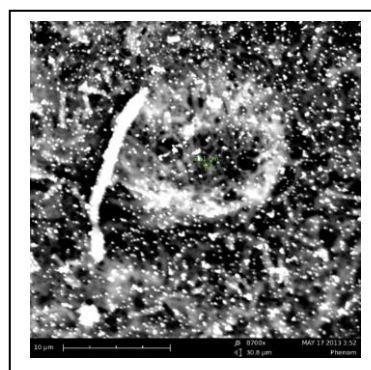


Gambar 4. Distribusi Ukuran Nanopartikel Perak

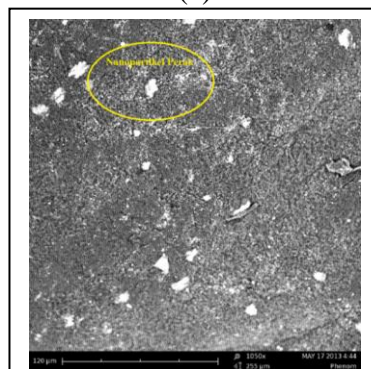
Foto SEM Selulosa Bakteri

Gambar 5 menunjukkan foto SEM komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol dideposit nanopartikel perak.

Selulosa bakteri tersusun dari benang-benang fibril (Goh et al., 2012). Hasil SEM menunjukkan bahwa nanopartikel perak berhasil dideposit pada selulosa bakteri yang berasal dari air cucian beras. Nanopartikel perak diduga teradsorpsi pada selulosa bakteri. Interaksi antara selulosa bakteri dan nanopartikel perak diduga merupakan adsorpsi secara kimia yaitu terjadi melalui ikatan kimia dengan membentuk ikatan kovalen yaitu antara gugus $-OH$ pada selulosa bakteri dengan Ag pada nanopartikel perak (Maneerung et al., 2008).



(a)

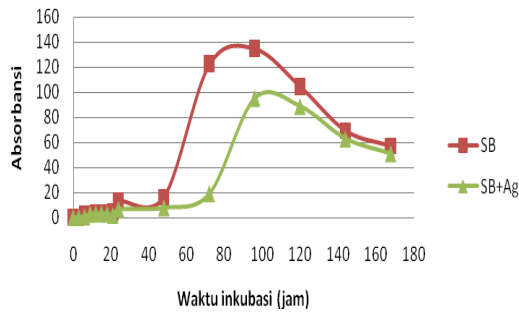


(b)

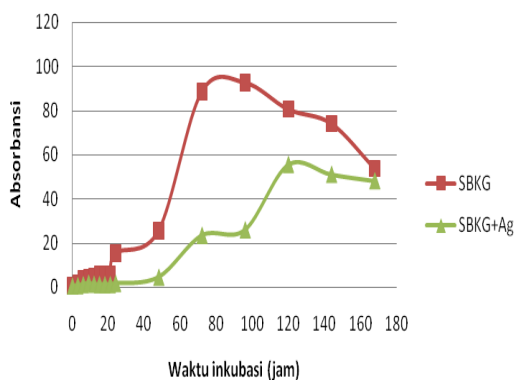
Gambar 5. Foto SEM Komposit Selulosa Bakteri-Kitosan-Gliserol Dideposit Nanopartikel Perak (a) Perbesaran 1050x dan (b) Perbesaran 8700x

Aktivitas Antibakteri Selulosa Bakteri

Hasil uji antibakteri selulosa bakteri dan selulosa bakteri yang terdeposit nanopartikel perak terhadap *S.aureus*, disajikan pada **Gambar 6**. Berdasarkan Gambar 6 selulosa bakteri yang dideposit nanopartikel perak mempunyai nilai absorbansi lebih rendah dibanding dengan nilai absorbansi selulosa bakteri tanpa nanopartikel perak.



Gambar 6. Kurva Pertumbuhan *S.aureus* pada Media yang Mengandung SB dan Selulosa Bakteri yang Dideposit Nanopartikel Perak (SB + Ag)



Gambar 7. Kurva Pertumbuhan *S.aureus* pada Media yang Mengandung SBKG dan SBKG dideposit Nanopartikel Perak

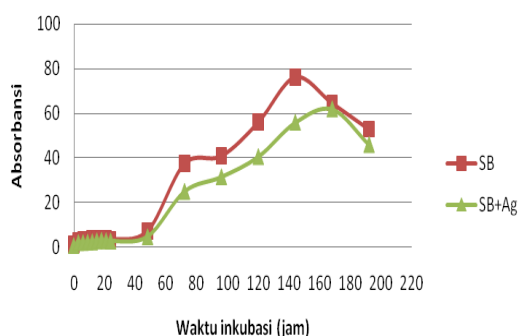
Berdasarkan **Gambar 7** terlihat bahwa komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol yang dideposit nanopartikel perak memiliki nilai absorbansi lebih rendah dibanding dengan komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol tanpa nanopartikel perak. Kurva pertumbuhan bakteri umumnya terbagi menjadi empat fase pertumbuhan, yaitu fase *lag* (adaptasi), fase *log* (eksponensial), fase *stationer* dan fase *death* (kematian). Berdasarkan kurva pertumbuhan yang didapatkan pada **Gambar 6** dan **7** menunjukkan empat daerah atau fase pertumbuhan. Selulosa bakteri dan komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol yang dideposit nanopartikel perak mempunyai nilai absorbansi lebih rendah dibandingkan dengan nilai absorbansi selulosa bakteri

dan komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol tanpa nanopartikel perak. Nilai absorbansi lebih rendah menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada media yang mengandung sampel dengan penambahan nanopartikel perak lebih lambat dibanding dengan sampel tanpa adanya nanopartikel perak. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan signifikan terhadap perlakuan yang diberikan pada bakteri uji. Hal ini menunjukkan bahwa selulosa bakteri dan komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol yang dideposit nanopartikel perak memberi pengaruh sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri uji. *S. aureus* merupakan jenis bakteri Gram positif. Struktur dinding bakteri Gram positif relatif sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri menemukan sasaran untuk mengganggu viabilitas bakteri.

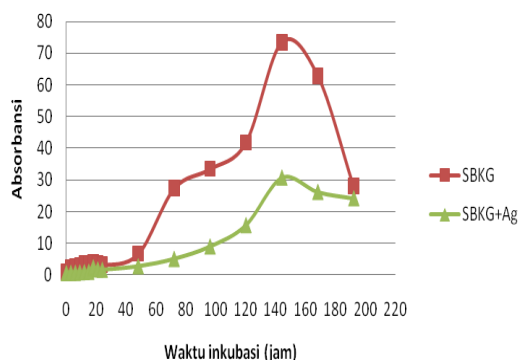
Seperti kurva pertumbuhan *S. aureus*, pada kurva pertumbuhan *E. coli* juga mempunyai keempat daerah atau fase pertumbuhan. Selain itu juga dapat diketahui bahwa pertumbuhan bakteri pada media yang mengandung selulosa bakteri dan komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol yang dideposit nanopartikel perak mempunyai nilai absorbansi lebih rendah dibandingkan dengan nilai absorbansi kultur bakteri yang mengandung selulosa bakteri dan komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol tanpa nanopartikel perak. Pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan nilai absorbansi lebih rendah menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri pada media yang diberi komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol dideposit nanopartikel perak lebih terhambat dibandingkan dengan sampel tanpa nanopartikel perak. Berdasarkan hasil analisis sidik ragam menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan signifikan pengaruh perlakuan yang diberikan pada bakteri uji. Hal ini menunjukkan bahwa selulosa bakteri dan komposit selulosa

bakteri-kitosan-gliserol yang dideposit nanopartikel perak memberikan pengaruh sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri uji.

Gambar 8 menunjukkan bahwa selulosa bakteri yang dideposit nanopartikel perak mempunyai nilai absorbansi lebih rendah dibandingkan dengan selulosa bakteri tanpa nanopartikel perak. Nilai absorbansi rendah dari selulosa bakteri yang dideposit nanopartikel perak menunjukkan aktivitas antibakteri yang tinggi.



Gambar 8. Kurva Pertumbuhan *E. coli* dalam Media yang Mengandung Selulosa Bakteri Tanpa dan dengan Deposit Nanopartikel Perak



Gambar 9. Kurva Pertumbuhan *E. coli* dalam Media yang Mengandung Komposit Selulosa Bakteri-Kitosan-Gliserol

Gambar 9 menunjukkan bahwa komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol yang dideposit nanopartikel perak mempunyai daya hambat lebih besar dibandingkan dengan komposit selulosa

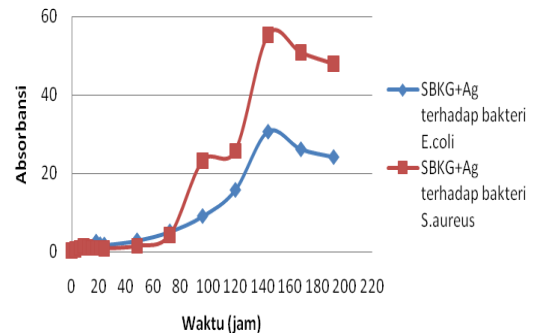
bakteri-kitosan-gliserol tanpa nanopartikel perak terhadap pertumbuhan *E. coli*.

Terlihat bahwa pada **Gambar 9**, komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol yang dideposit nanopartikel perak juga mempunyai nilai absorbansi lebih rendah dibandingkan dengan komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol tanpa nanopartikel perak. Komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol yang dideposit nanopartikel perak mempunyai aktivitas antibakteri lebih baik dibandingkan dengan komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol tanpa nanopartikel perak. Seperti kurva pertumbuhan *S. aureus*, pada kurva pertumbuhan *E. coli* juga mempunyai keempat daerah atau fase pertumbuhan yang didapatkan pada **Gambar 8** dan **9**. Selain itu juga dapat diketahui bahwa pertumbuhan bakteri pada media yang mengandung selulosa bakteri dan komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol yang dideposit nanopartikel perak mempunyai nilai absorbansi lebih rendah dibandingkan dengan nilai absorbansi kultur bakteri yang mengandung selulosa bakteri dan komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol tanpa nanopartikel perak. Pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan nilai absorbansi lebih rendah menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri pada media yang diberi komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol yang dideposit nanopartikel perak lebih terhambat dibandingkan dengan sampel tanpa nanopartikel perak. Hasil analisis ANOVA menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan signifikan terhadap perlakuan yang diberikan pada bakteri uji. Hal ini menunjukkan bahwa selulosa bakteri dan komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol tanpa dan adanya nanopartikel perak memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri uji.

Berdasarkan hasil uji antibakteri yang dilakukan terhadap bakteri *E. coli* dapat diketahui bahwa sampel selulosa-bakteri-kitosan-gliserol dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* meskipun tanpa adanya penambahan

nanopartikel perak (**Gambar 9**). Penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* terjadi karena ada aktivitas antibakteri dari kitosan dan gliserol. Kitosan memiliki kemampuan antibakteri karena muatan positif NH_3^+ glukosamin kitosan yang berinteraksi dengan muatan negatif (lipopolisakarida, protein) pada membran sel mikroba (Klaykrayat, Siralertmukul, & Srikulkit, 2010), sehingga menyebabkan kerusakan membran luar sel *E. coli* lebih bermuatan negatif dibandingkan dengan *S. aureus*. Hal tersebut dapat terjadi karena adanya lipopolisakarida dan peptidoglikan yang mengandung COO^- pada *E. coli*, sehingga secara keseluruhan lebih bermuatan negatif daripada *S. aureus*. (Radzig et al., 2013)

Komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol yang dideposit nanopartikel perak ditunjukkan pada **Gambar 10** juga memberikan efek penghambatan lebih tinggi terhadap *E. coli*. Berdasarkan hasil analisis ini dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan antara pertumbuhan *S.aureus* dan *E. coli* dalam media yang diberi komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol yang dideposit nanopartikel perak. **Gambar 10** menunjukkan bahwa komposit selulosa bakteri-kitosan gliserol memberikan efek penghambatan lebih tinggi terhadap *E. coli*. Modifikasi selulosa bakteri dilakukan dengan menggabungkan sifat-sifat dari selulosa bakteri dan kitosan terbukti dapat meningkatkan sifat antibakteri dari komposit tersebut (Lin, Lien, Yeh, Yu, & Hsu, 2013). Dengan adanya penambahan gliserol dalam preparasi komposit ternyata dapat memberikan efek antibakteri pula selain sebagai pemlastis. Secara keseluruhan selulosa bakteri dan komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol dari limbah cucian beras yang dideposit nanopartikel perak menunjukkan aktivitas antibakteri lebih efektif terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dibandingkan dengan sampel tanpa penambahan nanopartikel perak.



Gambar 10. Kurva Pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* dalam Media yang Mengandung Komposit Selulosa Bakteri-Kitosan-Gliserol Dideposit Nanopartikel Perak

Ion perak mudah melakukan penetrasi ke dalam selulosa bakteri melalui pori-pori pada selulosa bakteri, Ag^+ yang terserap pada mikrofibril selulosa bakteri membentuk suatu ikatan melalui interaksi elektrostatis (Kim et al., 2007). Interaksi elektrostatis terjadi diduga karena banyaknya elektron pada atom oksigen dari gugus polar hidroksil dan eter yang ada pada selulosa bakteri tersebut diharapkan dapat berinteraksi dengan elektropositif kation logam transisi. Mekanisme bakteriosidal nanopartikel perak terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* adalah 1). Ion perak berpengaruh terhadap denaturasi menyebabkan molekul DNA bakteri menjadi kental dan bakteri kehilangan kemampuan replikasi, 2). ion perak berinteraksi dengan tiol dari protein, yang dapat menyebabkan inaktivasi protein bakteri (Franci et al., 2015). Denaturasi yang terjadi dimungkinkan karena gugus $-\text{COOH}$ dan gugus $-\text{NH}_2$ protein dapat bereaksi dengan ion logam dan membentuk senyawa kelat, sehingga protein mengalami denaturasi. Selain itu gugus $-\text{COOH}$ dan gugus $-\text{NH}_2$, gugus $-\text{R}$ (rantai samping) pada molekul asam amino dapat berinteraksi dengan ion atau senyawa lain. Gugus Sulfhidril ($-\text{SH}$) pada molekul sistein dapat bereaksi dengan ion Ag^+ , sehingga mengganggu ikatan disulfida dalam protein dan menyebabkan

denaturasi protein. Denaturasi protein dalam campuran dengan asam nukleat dapat menyebabkan terjadinya denaturasi pada asam nukleat itu sendiri, dimana DNA merupakan salah satu jenis asam nukleat. Hal tersebut dimungkinkan menyebabkan nanopartikel perak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

KESIMPULAN

Penambahan kitosan dan gliserol dapat meningkatkan intensitas gugus fungsi -NH tetapi menurunkan intensitas gugus fungsi -OH, kristalinitas, kekuatan tarik, dan elongasi selulosa bakteri. Nanopartikel perak berhasil dipreparasi secara kimia dengan reduktor trisodium sitrat disertai pengaliran gas nitrogen ditunjukkan oleh adanya puncak absorpsi baru pada 421,80 nm. Nanopartikel perak berhasil didepositkan ke dalam komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol. Selulosa bakteri dan komposit selulosa bakteri-kitosan-gliserol yang dideposit nanopartikel perak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih disampaikan kepada Kementerian Riset dan Teknologi Republik Indonesia yang telah memberikan dukungan dana melalui Insentif Riset SINas 2014.

DAFTAR PUSTAKA

Anicuta, S.G., Dobre, L., Stroesca, M., Jipa, I. (2010). *Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy for Characterization of Antimicrobial Films Containing Chitosan*, Analele Universităţii din Oradea Fascicula: Ecotoxicologie, Zootehnie și Tehnologii de Industrie Alimentară, 1234-1240.

Chargot, M.S., Cybulska, J., and Zdunek, A. (2011). Sensing the structural differences in cellulose from apple

and bacterial cell wall materials by Raman and FT-IR spectroscopy. *Sensors*, 11(1), 5543-5560.

- Ciechańska, D., Wietecha, J., Kaźmierczak, D., and Kazimierczak, J. (2010). Biosynthesis of modified bacterial cellulose in a tubular form. *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, 18(5), 98-104.
- Czaja, W.K., Young, D.J., Kawecki, M., and Brown, R.M. (2007). The Future prospects of microbial cellulose in biomedical applications. *Biomacromolecules*, 8(1), 1-12.
- Fernandes, S.C.M., Oliveira, L., Freire, C.S.R., Silvestre, A.J.D., Neto, C.P., Gandini, A., and Desbrieres, J. (2009). Novel transparent nanocomposite films based on chitosan and bacterial cellulose. *Green Chemistry*, 11(1), 2039-2029.
- Franci, G., Falanga, A., Galdiero, S., Palomba, L., Rai, M., Morelli, G., and Galdiero, M. (2015). Silver nanoparticles as potential antibacterial agents. *Molecules*, 20(1), 8856-8874.
- Goh, W.N., Rosma, A., Kaur, B., Fazilah, A., Karim, A.A., and Bhat, R. (2012). Microstructure and physical properties of microbial cellulose produced during fermentation of black tea broth (Kombucha). *International Food Research Journal*, 19(1), 153-158.
- Kim, Sung, J., Kuk, E., Nam Yu, K., Kim, J.H., and Chao, M.H. (2007). Antimicrobial Effect of Silver Nanoparticles. *Nanomedicine : Nanotechnology, Biology and Medicine*, 3(1), 95-101.
- Klaykruayat, B., Siralermukul, K., dan Srikulkit, K. (2010). Chemical modification of chitosan with cationic hyperbranched dendritic polyamidoamine and its antimicrobial activity on cotton fabric. *Carbohydrate Polymers*, 80(1), 197-207.

- Kuusipalo, J., Kaunisto, M., Laine, A., and Kellomaki, M. (2005). Chitosan as a coating additive in paper and paperboard, *Technical Association of the Pulp and Paper Industry; Journal*. 4(8), 17-21.
- Li, X., Yang, M., Shi, X., Chu, X., Chen, L., and Wang, Y. (2015). Effect of the intramolecular hydrogen bond on the spectral and optical properties in chitosan oligosaccharide, *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, 69(1), 237–242.
- Lin, W.C.; Lien, C.C.; Yeh, H.J., Yu, C.M., Hsu, S.H. (2013). Bacterial cellulose and bacterial cellulose-chitosan membranes for wound dressing applications, *Carbohydrate Polymers*, 94(1), 603–611.
- Lina, F., Yue, Z., Jin, Z., and Guang, Y. (2011). *Biomedical Engineering – Frontiers and Challenges*, InTech, Croatia.
- Liu, X., Gao, G., Dong, L., Ye, G., and Gu, Y. (2009). Correlation between hydrogen-bonding interaction and mechanical properties of polyimide fibers, *Polymers for Advanced Technologies*, 20(4), 362-366.
- Maneerung, T., Tokura, S., dan Rujiravanit, R. (2008). Impregnation of silvernanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing, *Carbohydrate Polymers*, 72(1), 48.
- Olszynski, M., Prywer, J., and Torzewska, A. (2015). Effect of size and shape of nanosilver particles on struvite and carbonate apatite, *Crystal, Growth and Design*, 15(7), 3307–3320.
- Pratomo, H dan Rohaeti, E. (2011). Bioplastik nata de cassava sebagai bahan edible film ramah lingkungan, *Saintek*, 16(2), 172-190.
- Radzig, M.A., Nadochenko, V.A., Koksharova, O.A., Kiwi, J., Lipasova, V.A., and Khmel, I.A., (2013). Antibacterial effects of silver nanoparticles on g-negative bacteria: Influence on the growth and biofilms formation, mechanisms of action, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 102(1), 300-306.
- Rechia, L.M., Morona, J.B.J., Zepon, K.M., Soldi, V., dan Kanis, L.A. (2010). Mechanical properties and total hydroxycinnamic derivative release of starch/glycerol/Melissa officinalis extract films, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 46(3), 491-497.
- Singh, K., Panghal, M., Kadyan, S., Chaudhary, U., and Yadav, J.P. (2014). Antibacterial activity of synthesized silver nanoparticles from *Tinospora cordifolia* against multi drug resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients, *Journal Nanomed Nanotechnol*, 5(2), 1-6.
- Sobahi, T.R.A., Abdelaal, M.Y., and Makki, M.S.I. (2014). Chemical modification of chitosan for metal ion removal, *Arabian Journal of Chemistry* .7(5), 741-746.
- Tabaai, M. J. and Emtiazi, G., 2016, Comparison of bacterial cellulose production among different strains and fermented media, *Applied Food Biotechnology*, 3(1), 35-41.
- Tang, C., Wang, D., Cui, Y., Shi, B., and Li, J. (2016), Tensile strength of fiber-reinforced soil, *Journal of Materials in Civil Engineering*, ISSN Online 1943-5533, <http://ascelibrary.org>, diakses pada tanggal 10 Maret 2016.
- Tien, B. (2010). Modifying cellulose to create protective material for firefighters, http://cosmos.ucdavis.edu/archives/2010/cluster8/TIEN_Benjamin.pdf, diakses pada tanggal 24 Januari 2012.
- Yunos M.B.Z. and Rahman, W.A. (2011). Effect of glycerol on performance rice straw/starch based polymer, *Journal of Applied Sciences*, 11(13), 2456-2459.

Zhang, H., Deng, L., Yang, M., Min, S., Yang, L., dan Zhu, L. (2011). Enhancing effect of glycerol on the tensile properties of *Bombyx mori* oocoon sericin films, *International Journal of Molecular Sciences*, 12(1), 3170-3181.

Zhong, Q.P, dan Xia, W.S. (2008). Physicochemical properties of edible and preservative films from chitosan/cassava starch/gelatin blend plasticized with glycerol, *Food Technology and Biotechnology* , 46(3), 262–269.