

MATERIAL CuO/BENTONIT SEBAGAI BAHAN ANTIBAKTERI ESCHERICHIA COLI

CuO/Bentonite Material as antibacterial Agent for Escherichia coli

Rachma Yulia Fatmawati, Karna Wijaya*, dan Iqmal Tahir

Departemen Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara Yogyakarta 55281

Tel: 0274-545188, email : karnawijaya@ugm.ac.id

Abstrak

Sintesis, karakterisasi, dan uji aktivitas antibakteri material CuO/bentonit telah dilakukan. Preparasi diawali dengan perlakuan aktivasi terhadap bentonit dengan H₂SO₄ untuk menghasilkan H-bentonit dan kemudian didispersikan dalam CuSO₄·5H₂O, KOH, dan etanol untuk menghasilkan CuO/bentonit. Sintesis CuO/bentonit ini dilakukan dengan metode hidrotermal. Produk dikarakterisasi dengan spektrofotometer inframerah, X-ray Difraktometer dan analisis morfologi menggunakan Scanning Electron Microscope-Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (SEM-EDX). Aktivitas antibakteri produk diuji dengan metode Agar Diffusion Test (ADT) terhadap penghambatan pertumbuhan Escherichia coli. Hasil penelitian menunjukkan jika CuO/bentonit telah berhasil terbentuk yang dikonfirmasi oleh difraktogram XRD dengan keberadaan puncak pada $2\theta = 35,10; 38,34; \text{ dan } 40,07^\circ$. Citra SEM menunjukkan bahwa modifikasi bentonit menjadi CuO/bentonit menyebabkan perubahan pada permukaan bentonit. Data EDX menunjukkan kandungan Cu di dalam CuO/bentonit sebesar 19,50% (b/b). Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa bentonit, CuO/bentonit, dan CuO memiliki aktivitas antibakteri *E. coli*. CuO/bentonit memiliki diameter daya hambat paling luas dibandingkan dengan bentonit, H/bentonit, dan CuO/bentonit.

Kata kunci: antibakteri, tembaga oksida, bentonit, lempung

ABSTRACT

The synthesis, characterization, and antibacterial activity test of CuO/bentonite-based-material has been conducted. The preparation was started by activating bentonite with H₂SO₄ 1 M to produce H-bentonite material. The H-bentonite was dispersed into CuSO₄·5H₂O, KOH, and ethanol to form CuO/bentonite. Synthesis of CuO/bentonite was carried out by hydrothermal method. Products were characterized using FTIR, XRD, and SEM-EDX. Antibacterial activity of products was tested toward Escherichia coli using Agar Diffusion Test. The results showed that CuO/bentonite material has been successfully produced which was confirmed by XRD diffractogram with the appearance of peaks on $2\theta = 35.10, 38.34, \text{ and } 40.07^\circ$. SEM image showed that the modification of bentonite to CuO/bentonite resulted in the change of bentonite surface. Data of EDX showed the appearance of Cu peak in the bentonite by 19.50% wt of CuO/bentonite. The results of antibacterial activity showed that all products had antibacterial activity. CuO/bentonite showed the best extent to which bacteria are affected compared with bentonite, H-bentonite, and CuO/bentonite towards *E. coli*.

Keywords: antibacterial, cupric oxide, bentonite, clay

1. PENDAHULUAN

Bentonit merupakan salah satu jenis lempung yang tersusun dari berbagai mineral, dengan komposisi penyusun utama monmorilonit. Monmorilonit adalah material aluminosilikat dengan struktur berlapis. Mineral monmorilonit memiliki sifat mengembang (*swelling*) yang baik, kapasitas tukar kation yang besar, yaitu sebesar 70-95 meq/100 g, serta memiliki luas permukaan spesifik 700-800 m²/g (Tan, 1998). Secara struktural, bentonit terdiri dari lembar alumina (Al₂O₃) oktahedral dan lembar silika (SiO₂) tetrahedral

(Manohar dkk., 2006; Safa dkk., 2009). Bentonit memiliki muatan negatif pada permukaannya akibat substitusi isomorfik. Substitusi ini terjadi karena penggantian ion dengan muatan yang lebih rendah yakni Al^{3+} menggantikan Si^{4+} pada situs tetrahedral dan Mg^{2+} menggantikan Al^{3+} pada situs oktahedral (Duman dan Tunc, 2009). Akibat adanya substitusi ini dalam lapisan oktahedralnya, tiap unit bentonit dipisahkan oleh ruang antar lapis dengan kation yang dapat ditukargantikan (Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) sebagai penyeimbang muatan negatif yang terjadi (Keller-Breest, 1994).

Antibakteri adalah zat yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan bakteri. Material antibakteri anorganik lebih banyak dikembangkan untuk mengatasi bakteri dan mikroba (Okouchi dkk., 1995; Wilczynski, 2000), karena memiliki beberapa keunggulan, yaitu stabilitas kimia yang lebih baik, ketahanan termal yang lebih bagus, aman jika digunakan, dan masa aksi antibakteri lebih lama (Yamamoto, 2001; Zhang dkk., 2007). Senyawa antibakteri anorganik biasanya membentuk sebuah komposit dengan ion-ion logamnya diimpregnasi atau dilapiskan pada molekul pengembannya (Li dkk., 2002). Tembaga (Cu) memiliki efek antibakteri yang dapat diaplikasikan dalam pengontrolan bakteri (Grass dkk., 2011). Ion logam yang dilepaskan oleh oksidanya membawa muatan positif, membuat interaksi elektrostatik pada reaksi. Ion logam tersebut kemudian direduksi menjadi atom logam oleh gugus tiol pada enzim dan protein yang kemudian menonaktifkan proses metabolisme yang penting bagi sel serta respirasinya hingga mengarah pada kematian sel (Smetana dkk., 2008). Ion Cu^{2+} menunjukkan aktivitas bakterisidal (ketahanan terhadap bakteri) *in vitro* yang sangat tinggi (Domek dkk., 1984).

Dengan memanfaatkan kandungan monmorilonitnya yang berstruktur berlapis-lapis, diharapkan bentonit dapat dimodifikasi sedemikian rupa sehingga sifat-sifat fisik dan kimianya menjadi lebih baik (Wijaya, 2015) dengan CuO dan menghasilkan sebuah material antibakteri yang memiliki kemampuan melawan bakteri *E. coli*, seperti halnya yang sudah terbukti pada penelitian sebelumnya untuk AgO/bentonit (Wijaya dkk., 2016). Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari cara sintesis dan karakterisasi material antibakteri berbasis CuO/bentonite dan untuk dapat mengetahui efektivitas antibakteri dari material CuO/bentonit dibandingkan CuO terhadap bakteri *E. coli*.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan material CuO/bentonit adalah bentonit alam dari Tasikmalaya, nutrient broth (NB) Oxoid, kultur murni bakteri *E. coli* cair (berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada), akuades, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Merck), KOH (Merck), H_2SO_4 97% (Merck), etanol (Merck), kertas saring Whatman no. 42.

Alat-alat yang digunakan berupa peralatan gelas laboratorium, botol kaca, botol Falcon 50 mL, pengaduk magnet elektrik (Cole Parmer), oven (Mettler-UNB 400), centrifuge (Kokusan), hotplate (Stuart), *autoclave* (Hirayama AL-100), pinggan petri, corong, blender (Miyako), penyedot vakum, pengayak 100 mesh, kertas pH universal, mortar, neraca analitik, timbangan elektrik, spektrofotometer inframerah (Shimadzu Prestidge-21), X-Ray Diffraction (Shimadzu 6000), Scanning Electron Microscope-Energy Dispersive X-Ray (FEI Inspect-S50, EDAX Ametek).

2.2 Preparasi bentonit

Bentonit dihaluskan, disaring dengan pengayak 100 mesh, lalu didispersikan ke dalam 750 mL larutan H_2SO_4 1 M, kemudian dipanaskan pada suhu 80 ± 2 °C selama ± 3 jam dan

didiamkan selama 24 jam. Hasilnya disaring dan endapan dicuci, disentrifugasi 2500 rpm selama 10 menit. Pencucian dilakukan hingga endapan tidak lagi mengandung ion sulfat. Endapan hasil pencucian kemudian dipanaskan dalam oven selama 3 jam pada suhu 110 °C. Padatan kering diblender dan disaring menggunakan pengayak 100 mesh. Hasil ayakan tersebut merupakan bentonit teraktivasi (H-bentonit).

2.3 Sintesis CuO/bentonit

Empat gram H-bentonit didispersikan dalam 20 mL akuades lalu ditambahkan 8 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan larutan KOH 1 M dalam etanol kemudian diaduk selama 1 jam. Campuran lalu dimasukkan dalam *autoclave* dan dipanaskan dalam oven selama 5 jam pada suhu 160 °C. Hasil padatan dicuci lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 110 °C sebelum akhirnya dikalsinasi bertahap hingga 400 °C. Hasil tersebut kemudian dihaluskan dan diayak 100 mesh untuk didapatkan CuO/bentonit.

2.4 Uji sifat antibakteri produk

Bentonit, H-bentonit, dan CuO/bentonit disiapkan dengan menimbang masing-masing produk sebesar 0,5 g. Sebelum uji antibakteri dilakukan, semua alat dan bahan disterilisasikan. Sterilisasi dilakukan menggunakan *autoclave* yang menggunakan uap air jenuh bertekanan 15 psi dengan suhu 121 °C. Kertas *filter* yang telah disterilkan diletakkan pada wadah petri yang telah diberikan kultur bakteri *E. coli* kemudian produk diletakkan pada bagian tengahnya. Seluruh petri ditutup dan diinkubasikan selama 48 jam pada suhu ruangan (26 °C).

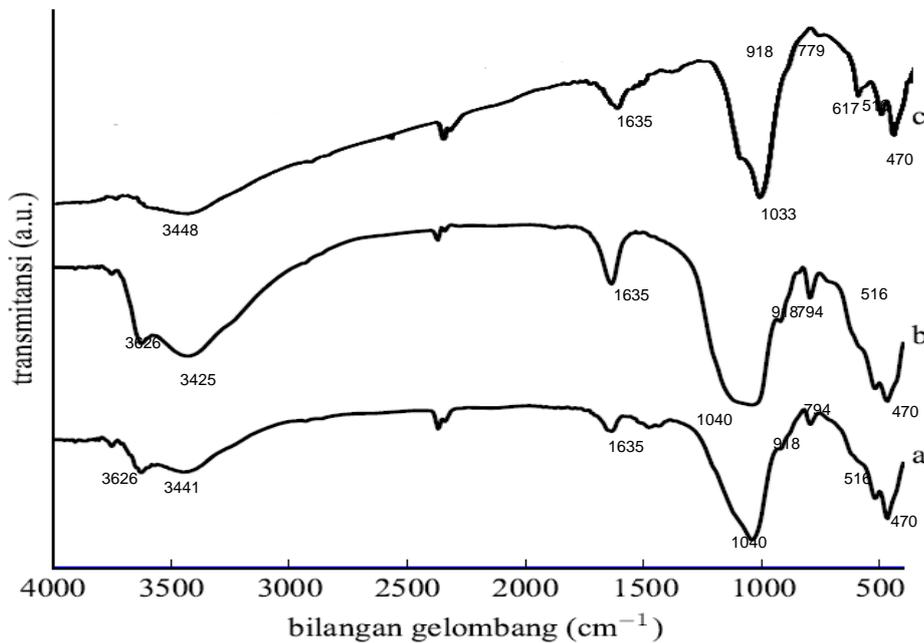
3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Karakterisasi FTIR

Berdasarkan spektra FTIR pada Gambar 1 didapatkan beberapa pita khas dari analisis pada bentonit, H-bentonit dan CuO/bentonit. Pita serapan khas dari bentonit alam berada pada bilangan gelombang 3441 dan 1635 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya vibrasi ulur dan tekuk gugus OH dari molekul air yang teradsorpsi pada permukaan bentonit. Pada bilangan gelombang 3626 cm^{-1} merepresentasikan adanya vibrasi ulur gugus hidroksi yang terikat pada kation Al^{3+} di lapisan oktahedral bentonit. Serapan Si-O sangat terlihat dalam struktur silikat dari bentonit alam dan dapat dengan mudah dikenali pada daerah serapan 1100-1000 cm^{-1} . Pita serapan pada bilangan gelombang 1040 cm^{-1} menunjukkan adanya serapan ulur asimetris dari TO_4 (T=Si/Al), sementara pada bilangan gelombang 516 dan 470 cm^{-1} menunjukkan serapan tekuk Si-O-Al (oktahedral) dan serapan tekuk Si-O-Si, lalu pada daerah 794 cm^{-1} yang merupakan serapan khas milik mineral kuarsa, dan pada bilangan gelombang 918 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi tekuk gugus hidroksi struktur Al-Al-OH.

Pita serapan khas bentonit alam pada bilangan gelombang 3441 dan 1635 cm^{-1} indikasi adanya vibrasi ulur dan tekuk gugus OH dari molekul air yang teradsorpsi pada permukaan bentonit. Pada bilangan gelombang 3626 cm^{-1} merepresentasikan adanya vibrasi ulur gugus hidroksi yang terikat pada kation Al^{3+} di lapisan oktahedral bentonit. Pada bilangan gelombang 1040 cm^{-1} menunjukkan adanya serapan ulur asimetris dari TO_4 (T=Si/Al), sementara pada bilangan gelombang 516 dan 470 cm^{-1} menunjukkan serapan tekuk Si-O-Al (oktahedral) dan serapan tekuk Si-O-Si, lalu pada daerah 794 cm^{-1} merupakan serapan

kelas silikat mineral kuarsa, dan pada bilangan gelombang 918 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi tekuk gugus hidroksi struktur Al-Al-OH.



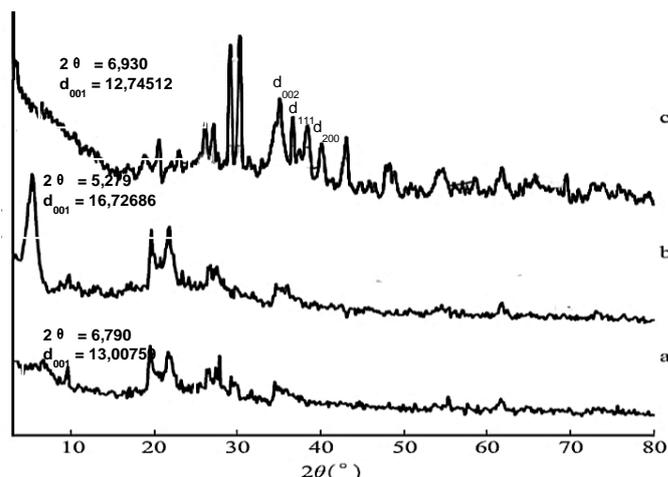
Gambar 1. Spektra FTIR (a) bentonit, (b) H-bentonit, dan (c) CuO/bentonit

Pengasaman dibuktikan adanya penurunan intensitas pada bilangan gelombang 918 cm^{-1} , karena adanya dealuminasi pada struktur bentonit. Penurunan intensitas pada bilangan gelombang 794 cm^{-1} menunjukkan keberadaan kuarsa yang terelusi secara parsial. Pita serapan bilangan gelombang 1635 cm^{-1} pada H-bentonit lebih tajam, karena adanya penambahan konsentrasi H_2O dalam keadaan bebas dan pada bilangan gelombang 1040 cm^{-1} terlihat adanya pelebaran pita serapan, karena terjadi dealuminasi di dalam struktur bentonit.

Senyawa CuO dalam bentonit tidak dapat dipastikan dengan spektra FTIR, karena CuO memiliki ikatan dengan karakter ionik yang dominan sehingga pita serapan muncul pada bilangan gelombang yang kecil. Perubahan vibrasi dari Cu-O dapat ditunjukkan pada daerah 634 cm^{-1} (Markova-Deneva, 2010).

3.2 Karakterisasi XRD

Analisis bentonit, H-bentonit, dan CuO/bentonit ditunjukkan pada Gambar 2. Pada H-bentonit, nilai 2θ bergeser dari $6,79^\circ$ ke $5,28^\circ$ dengan nilai d_{001} monmorillonit $13,01\text{ \AA}$ menjadi $16,73\text{ \AA}$. Perubahan ini terjadi disebabkan hilangnya pengotor dan kation-kation yang terdapat pada ruang antar lapis bentonit akibat terelusi asam dan digantikan oleh air dan H^+ . Air yang mengisi pada ruang antar lapis bentonit menyebabkan ruang antar lapis mengembang dan membuat nilai d_{001} meningkat. Dengan perubahan nilai d_{001} dari $16,73\text{ \AA}$ ke $12,75\text{ \AA}$ sebagai akibat masuknya material baru (CuO) ke dalam ruang antar lapis bentonit dan menggantikan air. Material CuO melapisi permukaan ruang antar lapis bentonit dan membuat ruang tersebut mengecil. Pada difraktogram CuO/bentonit terlihat munculnya beberapa puncak baru pada $2\theta = 35,10; 38,34; \text{ dan } 40,07^\circ$. Berdasarkan hasil pencocokan yang dilakukan, dapat diketahui bahwa puncak-puncak tersebut masing-masing mewakili d_{002} , d_{111} , dan d_{200} dari senyawa CuO.



Gambar 2. Difraktogram XRD (a) bentonit, (b) H-bentonit, dan (c) CuO/bentonit

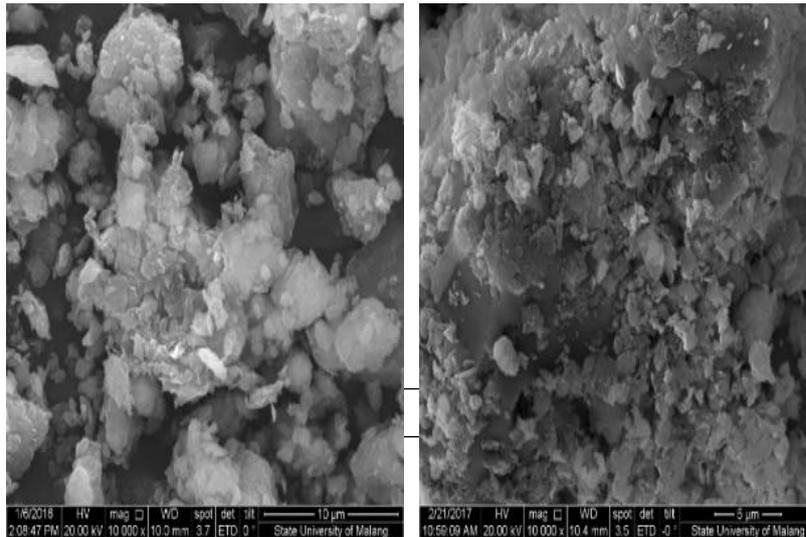
Intensitas difraktogram pada nilai 2θ di bawah 10° mengalami peningkatan disebabkan adanya kenaikan sifat kristalinitas monmorilonit dan hilangnya pengotor-pengotor yang ada. Aktivasi asam juga menyebabkan peningkatan intensitas difraktogram yang menunjukkan adanya kenaikan kristalinitas kuarsa ($2\theta = 20,56^\circ$ dan $26,51^\circ$). Kenaikan kristalinitas disebabkan oleh hilangnya pengotor amorf yang bercampur dengan kuarsa. Selain itu, aktivasi asam juga menyebabkan penurunan intensitas difraktogram pada $2\theta = 27,76^\circ$ yang mengindikasikan turunnya sifat kristalinitas dari material mikrolin. Hal ini dapat terjadi karena beberapa unsur penyusun mikrolin (K dan Al) mengalami elusi akibat terdispersi H_2SO_4 .

Setelah dilakukan pengembanan CuO dengan cara impregnasi, nilai 2θ dari H-bentonit mengalami kenaikan dan penurunan di beberapa daerah khas dibandingkan nilai 2θ H-bentonit mengalami pergeseran dari $2\theta = 5,28^\circ$ ke $6,93^\circ$. Dengan perubahan nilai d_{001} dari $16,73 \text{ \AA}$ ke $12,75 \text{ \AA}$ sebagai akibat masuknya material baru (CuO) ke dalam ruang antar lapis bentonit dan menggantikan air. Material CuO melapisi permukaan ruang antar lapis bentonit dan membuat ruang tersebut mengecil. Pada saat suhu naik, daerah antar lapis pada kristal bentonit dan kemampuan *swelling*nya menurun akibat dehidrasi saat dilakukan impregnasi. Dehidrasi merupakan proses fisik hilangnya air tanpa merusak struktur. Pengembanan CuO menyebabkan penurunan intensitas pada beberapa puncak difraktogram. Hal ini dimungkinkan terjadi karena permukaan bentonit terlapisi oleh material amorf yang dihasilkan dari reaksi (CuO amorf, Cu amorf, dan lain sebagainya).

3.3 Karakterisasi SEM-EDX

Karakterisasi bentonit, H-bentonit, dan CuO/bentonit ditunjukkan pada Gambar 3. Hasil citra menunjukkan bahwa terdapat perubahan pada permukaan bentonit, di mana rongga-rongga yang terdapat pada bentonit mengalami pengurangan dibanding setelah dilakukan modifikasi menjadi CuO/bentonit. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat suatu zat yang mengisi rongga material tersebut. Adanya CuO pada permukaan bentonit tidak dapat dipastikan dengan tampilan SEM, karena tidak dilakukan pemetaan unsur.

Data EDX menunjukkan adanya kemunculan % (b/b) Cu setelah dilakukan impregnasi yang mengindikasikan impregnasi berhasil dilakukan. Unsur-unsur seperti Na, Ag, dan Ca tidak terdeteksi dan persen berat Mg dan Fe mengalami penurunan. Keduanya disebabkan aktivasi dengan asam. Rasio Si/Al di dalam CuO/bentonit (3,40) memiliki nilai lebih besar dibandingkan rasio Si/Al pada bentonit (2,89). Peningkatan ini disebabkan adanya proses dealuminasi.



Gambar 3. Citra SEM (a) bentonite dan (b) CuO/bentonit

Tabel 1. Data EDX bentonit dan CuO/bentonit

Unsur	% (b/b) bentonit	% (b/b) CuO/bentonit
O	45,36	39,59
Na	2,31	0,00
Mg	2,88	1,30
Al	10,67	5,19
Si	30,88	17,67
Ag	1,38	0,00
K	1,95	11,58
Ca	1,43	0,00
Fe	3,15	1,58
Cu	0,00	19,50

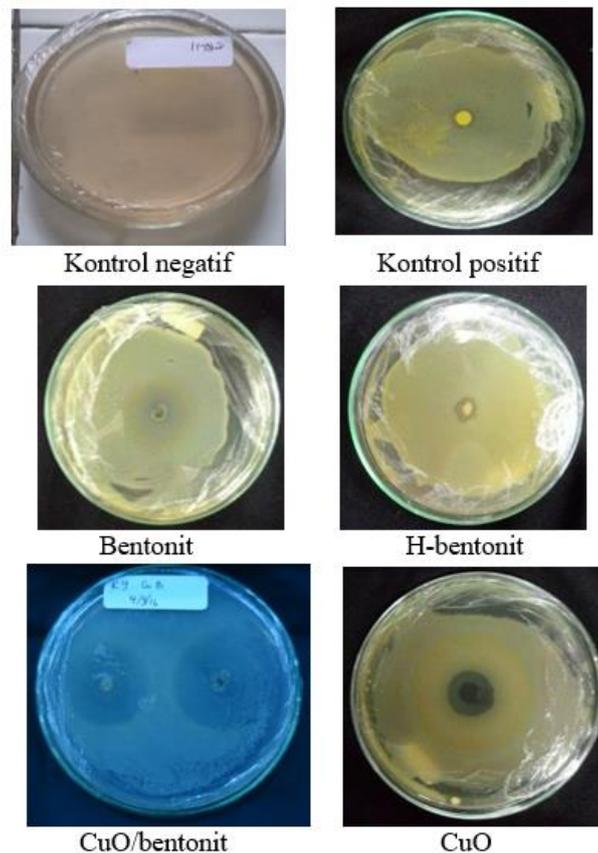
3.4 Uji antibakteri

Hasil uji antibakteri ditunjukkan pada Gambar 4. Bentonit, H-bentonit, CuO/bentonit, dan CuO menghasilkan uji antibakteri yang beragam. Masing-masing memiliki diameter daya hambat (DDH) terhadap bakteri yaitu sebesar: 0,4; 0,4; 5; dan 2 cm terhadap bakteri *E. coli*. Daerah atau zona bening yang dinyatakan dengan DDH tersebut merupakan daerah dengan konsentrasi bakteri *E. coli* yang rendah atau bahkan tidak ada sama sekali. Dari hasil uji antibakteri dapat dituliskan kuantitas dari masing-masing DDH dalam Tabel 2.

Analisis uji antibakteri pada bentonit, H-bentonit, CuO/bentonit dan CuO dilakukan dengan memerhatikan zona bening yang muncul di sekitar daerah filtrat sampel yang diletakkan pada bagian tengah petri. Zona bening yang muncul di semua petri, kecuali milik kontrol negatif (Gambar 4) merupakan daerah dengan kandungan konsentrasi bakteri *E. coli* yang rendah atau bahkan tidak sama sekali ada. Zona bening tersebut muncul akibat adanya reaksi penghambatan dan atau pembunuhan bakteri *E. coli* akibat aksi dari material antibakteri yang diujikan.

Berdasarkan hasil uji yang ditunjukkan pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa bentonit memiliki sifat antibakteri. Hal ini dapat diperhatikan dari zona bening yang muncul pada pengujian dengan bakteri *E. coli*. Sifat antibakteri dari bentonit muncul karena material bentonit yang digunakan mengandung unsur Ag dengan konsentrasi 1,38% (b/b). Adanya Ag menyebabkan sistem respirasi dari sel bakteri terganggu dan dapat berefek pada kematian dari bakteri. Pada H-bentonit, terdapat zona bening meskipun tidak sebesar

diameter penghambatan milik bentonit. hal ini disebabkan unsur antibakteri yang ada pada H-bentonit tidak sebesar pada bentonit akibat terelusi oleh asam. Kemunculan zona bening tersebut dimungkinkan karena masih terdapatnya unsur antibakteri yang tidak ikut terelusi dengan asam selama proses aktivasi dan masih terikat pada H-bentonit. Pada material CuO/bentonit, dibuktikan memiliki hambatan yang paling signifikan dibandingkan dengan bentonit dan H-bentonit. Hal ini disebabkan kandungan Cu yang memiliki sifat antibakteri dan dapat memberikan resistensi dan kematian pada bakteri *E. coli*.



Gambar 4. Hasil uji antibakteri

Tabel 2. Hasil kuantitatif uji antibakteri

Sampel	Rata-rata diameter penghambatan (cm)
Kontrol positif	0,55
Kontrol negatif	0
Bentonit 20 ppm	0,17
H-bentonit 20 ppm	0,033
Bentonit 0,5 g	0,4
H-bentonit 0,5 g	0,4
CuO/bentonit 0,5 g	5
CuO 0,5 g	2

Pada material CuO/bentonit, persentase berat Ag tidak terdeteksi (Tabel 2). Hal ini disebabkan adanya pertukaran Ag dengan Cu sehingga sebagian besar Cu terdeteksi menggantikan Ag. Konsentrasi Cu yang tinggi yaitu 19,50% (b/b) memberikan CuO/bentonit bersifat lebih efektif dalam membunuh dan atau mencegah bakteri. Kemudian pada hasil uji antara CuO/bentonit dengan CuO, CuO memiliki zona bening yang lebih kecil diameternya dengan kekuatan daya hambat lebih kuat (kemurnian pada zona bening). Terdapat zona bening berbayang pada petri CuO dengan diameter hampir sebesar

CuO/bentonit yang diindikasikan sebagai zona bening ketika sampel pertama kali ditambahkan pada kultur bakteri. Hal ini disebabkan CuO lebih cepat melepaskan ion Cu dibandingkan CuO/bentonit yang dapat secara bertahap, sehingga kemampuannya membunuh dan atau menahan perkembangan bakteri lebih cepat usai sehingga zona bening berbayang lebih cepat terserang bakteri.

4. Kesimpulan

CuO/bentonit telah berhasil disintesis, yang dikonfirmasi oleh: data difraktogram XRD dengan munculnya puncak difraktogram pada $2\theta = 35,10; 38,34$ dan $40,07^\circ$ serta data EDX yaitu terdapat persen berat Cu sebesar 19,50% (b/b), spektrofotometer FTIR, dan analisis SEM EDX. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa CuO/bentonit memiliki sifat antibakteri terhadap *E. coli*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Hibah Teknologi yang diterapkan di Industri 2015, Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan, Republik Indonesia.

REFERENCES

- Domek M.J., Lechevalier M.W., Cameron S.C., dan McFeters G.A., 1984, Evidence for the Role of Copper in the Injury Process of Coliform Bacteria in Drinking Water, *Department of Microbiology*, 48, 289-293.
- Duman, O., dan Tunc S., 2009, Electrokinetic and Rheological Properties of Na-bentonite in Some Electrolyte Solutions, *Microporous Mesoporous Mater.* 117, 331–338.
- Grass, G., Rensing, C., dan Solioz, M., 2011, Metallic Copper as an Antimicrobial Surface, *Appl. Environ. Microbiol.*, 77, 1541–1547.
- Keller-Breest, F., Benazeth S., dan Souleau, C., 1994, Pharmaceutical Silver Doped Clay: an EXAFS Study from Silver to Silicon K-Edges Absorption, *J. Phys. IV.*, 4, 299-302.
- Li, B., Yu, S., Hwang, J., and Shi, S., 2002, Antibacterial Vermiculite Nano-Material, *J. Miner. Mater. Charact. Eng.*, 1, 61-68.
- Manohar, D.M., Noeline, B.F., dan Anirudhan, T.S., 2006, Adsorption Performance of Al-pillared Bentonite Clay for the Removal of Cobalt(II) from Aqueous Phase. *Appl. Clay Sci.*, 31, 194-206.
- Markova-Deneva, I., 2010, Infrared Spectroscopy Investigation of Metallic Nanoparticles Based on Copper, Cobalt, and Nickel Synthesized Through Borohydride Reduction Method; A review. *J. Univ. Chem. Tech. Metal.*, 45, 351.
- Okouchi, S., Murata, R., Sugita, H., Moriyoshi, Y., dan Maeda, N., 1995, Calorimetric Evaluation of The Antimicrobial Activities of Calcined Dolomite. *J. Antibact. Antifungal Agents*, 26, 109-114.
- Safa, Ozcan, A., Ozer, G., dan Adnan, O., 2009, Adsorption of Lead(II) Ions onto 8-Hydroxy Quinoline-Immobilized Bentonite, *J. Hazard. Mater.*, 161, 499-509.
- Smetana, A. B., Klabunde, K. J., Marchin, G. R., dan Sorensen, C. M., 2008, Biocidal Activity of Nanocrystalline Silver Powders and Particles, *Langmuir*, 24, 7457–64.
- Tan, H.K., 1998, *Dasar-dasar Kimia Tanah*, diterjemahkan oleh: Didiek Hadjar Gunadi, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 35-36.
- Wijaya, K., 2015, Pengantar Kimia Material, Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, *Digibooks*, Yogyakarta, 62.
- Wijaya, K., Tahir, I., Aziz, I.T.A., 2016, *Synthesis of Ag₂O/bentonite Material as an Antibacterial of Escherichia coli*, PACCON Proceedings, Thailand, 2 Februari 2017.
- Wilczynski, M., 2000, Anti-Microbial Porcelain Enamels. *Ceram. Eng. Sci. Proc.*, 21, 81–83.
- Yamamoto O., 2001, Influence of Particle Size on the Antibacterial Activity of Zinc Oxide, *Int. J. Inorg. Mater.*, 3, 643-646.