

Biosintesis ZnO Nanopartikel Dari Ekstrak Air Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L) dan Ion Zn^{2+} Serta Interaksinya dengan Kitosan sebagai Antibakteri *Escherichia coli*

(sebagai Antibakteri *Escherichia coli* Biosynthesis of ZnO nanoparticles from aqueous leaves extract of jambu biji (*Psidium guajava* L) and Zn^{2+} ion and its Interaction with chitosan as antimicrobial against *Escherichia coli*)

Ahmad Fatoni^{*1}, Hilma Hilma¹, Selly Novriyanti¹ & Nurlisa Hidayati²

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi, Jl. Ariodillah III No.22A, Kec. Ilir Tim. I, Kota Palembang, Sumatera Selatan

²Universitas Sriwijaya, Jl. Masjid Al Ghalib, Bukit Lama, Kec. Ilir Bar. I, Kota Palembang, Sumatera Selatan

ABSTRACT: The biosynthesis of ZnO nanoparticles and chitosan-ZnO nanoparticles has been carried out. The aims of this research were modification and characterization of chitosan-ZnO nanoparticles and its application as an antibacterial agent of *Escherichia coli*. Characterization of chitosan-ZnO nanoparticles was conducted by FTIR spectroscopy and X-Ray diffractometer. X-ray diffractometer was used for the characterization of ZnO nanoparticles. ZnO nanoparticle was synthesized by the reaction between leaf extract of jambu biji (*Psidium guajava* L) and zinc acetate dihydrate. Chitosan-ZnO nanoparticles were synthesized by the reaction between chitosan and ZnO nanoparticles. The agar diffusion method was used to study antibacterial activity of chitosan-ZnO nanoparticles. The result showed that the wavenumber of FTIR spectra chitosan-ZnO nanoparticles appeared at 3427 cm^{-1} . The crystalline size of ZnO nanoparticles was 16.54 nm. The average inhibition zone of chitosan-ZnO nanoparticles at concentration 10.000, 5.000 and 2.500 mg/L was 30.57 ± 0.87 ; 25.97 ± 1.42 and 23.10 ± 1.61 mm respectively.

Keywords: ZnO nanoparticles; chitosan-ZnO nanoparticles; biosynthesis; *Escherichia coli*.

ABSTRAK: Pada penelitian ini telah dilakukan biosintesis ZnO nanopartikel dan kitosan-ZnO nanopartikel sebagai antibakteri *Escherichia coli*. Tujuan dari penelitian ini adalah modifikasi dan karakterisasi kitosan dengan ZnO nanopartikel dan aplikasinya sebagai antibakteri *Escherichia coli*. Karakterisasi kitosan-ZnO nanopartikel menggunakan spektrofotometer FTIR dan difraksi sinar X (XRD). Difraksi sinar X (XRD) digunakan untuk karakterisasi ZnO nanopartikel. ZnO nanopartikel disintesis melalui reaksi antara ekstrak air daun jambu biji (*Psidium guajava* L) dengan seng asetat dihidrat. Kitosan-ZnO nanopartikel disintesis melalui reaksi antara kitosan dan ZnO nanopartikel. Metode difusi agar digunakan untuk meneliti kitosan-ZnO nanopartikel sebagai antibakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bilangan gelombang pada spektra FTIR kitosan-ZnO nanopartikel muncul pada 3427 cm^{-1} . Ukuran kristal ZnO nanopartikel adalah 16,54 nm. Rata-rata zona inhibisi dari kitosan-ZnO nanopartikel pada konsentrasi 10.000, 5.000 dan 2.500 mg/L berturut-turut adalah $30,57 \pm 0,87$; $25,97 \pm 1,42$ dan $23,10 \pm 1,61$ mm.

Kata kunci: ZnO nanopartikel ; kitosan-ZnO nanopartikel ; biosintesis; *Escherichia coli*.

Pendahuluan

Kitosan diperoleh dari proses deasilasi kitin dan merupakan polimer alam yang tersusun dari 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucose [1-3]. Struktur kimia kitosan dapat dimodifikasi pada bagian gugus fungsi amina primer (atom C2) dan gugus fungsi alkohol yang terletak pada posisi atom C6 [2]. Modifikasi struktur kimia kitosan dapat dilakukan dengan metode fisika dan kimia [4]. Modifikasi dengan metode fisika adalah untuk meningkatkan luas area permukaan, situs aktif adsorpsi, pengembangan rantai polimer dan menurunkan kristalinitas. Sedangkan metode

kimia dapat dilakukan melalui penempelan (*grafting*), impregnasi (*impregnating*) dan ikatan silang (*cross linking*) [5,6]. Hasil akhir dari modifikasi struktur kimia kitosan ini adalah merubah karakteristik kelarutan kitosan [7,8].

ZnO nanopartikel dapat disintesis melalui beberapa metode antara lain menggunakan metode penambahan larutan NaOH sebagai reducing agent [9] dan sol gel [10]. Beberapa peneliti menggunakan ekstrak cair dari salah satu bagian tanaman sebagai agen pengubah dari suatu garam-garam logam menjadi suatu

Article history

Received: 14 Feb 2020

Accepted: 04 Agust 2020

Published: 30 Agust 2020

Access this article



*Corresponding Author: Ahmad Fatoni

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi, Jl. Ariodillah III No.22A, Kec. Ilir Tim. I, Kota Palembang, Sumatera Selatan, 30128 | Email: ahfatoni@yahoo.com

oksida-oksida logam yang berukuran nanopartikel. Hal ini didasarkan bahwa dalam suatu tanaman mempunyai komponen seperti akar, daun, batang, biji dan buah yang dapat dibuat menjadi suatu ekstrak tanaman yang kaya akan fitokimia-fitokimia sehingga dapat sebagai agen pereduksi dan stabilisasi untuk biosintesis oksida-oksida logam nanopartikel [11]. Beberapa peneliti telah melakukan biosintesis ZnO nanopartikel menggunakan ekstrak dari tanaman [11–13]. Produk ZnO nanopartikel yang dihasilkan digunakan sebagai senyawa antibakteri dan anti mikroba [13–16]. Hal ini didasarkan pada masuknya ion logam seng dan ukuran ZnO nanopartikel yang sangat kecil (nanometer) sehingga dapat terbentuknya spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species*) di dalam dinding sel bakteri yang mengakibatkan rusaknya dinding sel bakteri [17].

Beberapa peneliti telah melakukan sintesis kitosan-ZnO nanopartikel dari reaksi antara kitosan dengan ZnO nanopartikel [18–20]. Kitosan-ZnO nanopartikel dapat diaplikasikan sebagai anti bakteri [21–23]. Biosintesis ZnO nanopartikel dapat menggunakan ekstrak daun sirih hijau (*piper betle* L) dan seng asetat dihidrat serta ZnO nanopartikel yang dihasilkan diinteraksikan kitosan menjadi kitosan-ZnO nanopartikel [21]. Penelitian ini adalah biosintesis ZnO nanopartikel dari reaksi antara seng asetat dihidrat dan ekstrak cair daun jambu biji (*Psidium guajava* L). ZnO nanopartikel yang dihasilkan diinteraksikan dengan kitosan menjadi kitosan-ZnO nanopartikel. Kitosan-ZnO nanopartikel yang dihasilkan diujikan sebagai anti bakteri *E. coli*.

Metode Penelitian

Bahan

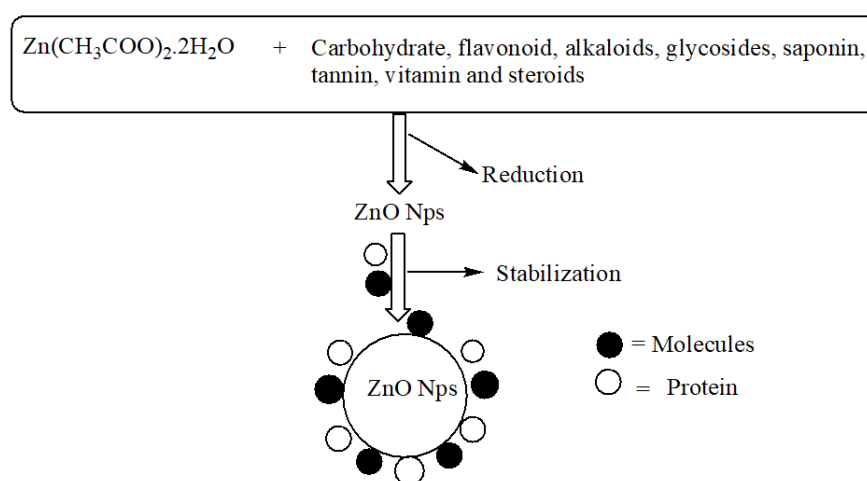
Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun jambu biji (*Psidium guajava* L), kitosan (DD 87%) dari CV. Ocean Fresh Bandung, Jawa Barat. Asam asetat glasial (CH_3COOH), natrium hidroksida (NaOH), seng asetat dihidrat ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), nutrisi agar. Semua bahan analytical grade dari PT. Merck. Bakteri *Escherichia coli* dari laboratorium Mikrobiologi STIFI Bhakti Pertiwi, kertas cakram (diameter 6 mm, MACHEREY NAGEL GmbH & Co), aquades dari laboratorium Penelitian STIFI Bhakti Pertiwi.

Penyiapan Ekstrak Daun Jambu Biji

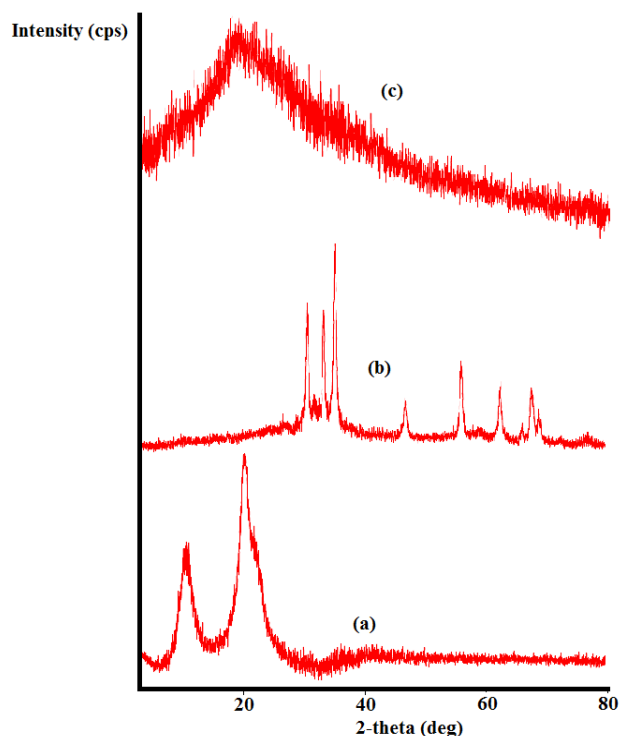
Sebanyak 50 gram daun jambu biji (*Psidium guajava* L) yang sudah bersih dipotong kecil-kecil dan dimasukkan dalam labu erlenmeyer 250 mL yang berisi 100 mL aquades dan dipanaskan hingga suhu 90°C selama 15 menit. Campuran kemudian didinginkan pada suhu kamar hingga dingin. Setelah dingin, campuran kemudian disaring dan filtrat disimpan dalam lemari pendingin untuk digunakan lebih lanjut [12].

Biosintesis ZnO Nanopartikel

Sebanyak 92,5 mL larutan seng asetat dihidrat 1 M dicampur dengan 7,5 mL ekstrak air daun jambu biji dan dikocok secara kontinyu pada suhu 60°C selama 10 menit. Campuran kemudian didinginkan pada suhu kamar dan pH campuran dibuat menjadi 10 dengan menambahkan larutan NaOH 0,1 M dengan pengadukan yang kontinyu



Gambar 1. Ilustrasi reaksi kimia ZnO nanopartikel [13]



Gambar 2. Difraktogram kitosan (a), ZnO nanopartikel (b) dan kitosan-ZnO nanopartikel (c)

hingga warna campuran berubah dari kuning menjadi menjadi gelap kekuningan. Campuran yang telah berubah warna tersebut dibiarkan semalam hingga terbentuk endapan. Endapan dipisahkan dan endapan yang diperoleh dicuci dengan aquadest untuk menghilangkan kotoran yang mungkin ada dalam endapan tersebut. Endapan kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C [12].

Sintesis kitosan-ZnO Nanopartikel

Sebanyak 0,1 gram ZnO nanopartikel kering dimasukkan kedalam *beaker glass* 250 ml yang berisi 100 ml larutan asam asetat 10 % (v/v) dan ditambahkan 0,1 gram kitosan kedalamnya dan diaduk secara kontinyu selama 30 menit. Campuran kemudian ditambahkan larutan NaOH 1 M tetes demi tetes hingga pH campuran menjadi 10. Seluruh campuran kemudian dipanaskan pada suhu 60 °C selama 1 jam dengan pengadukan yang kontinyu. Campuran dibiarkan pada suhu kamar selama semalam hingga terbentuk endapan. Endapan yang diperoleh kemudian dibilas dengan aquades hingga filtratnya mempunyai pH netral. Endapan dikeringkan dalam oven pada suhu 50 °C [24].

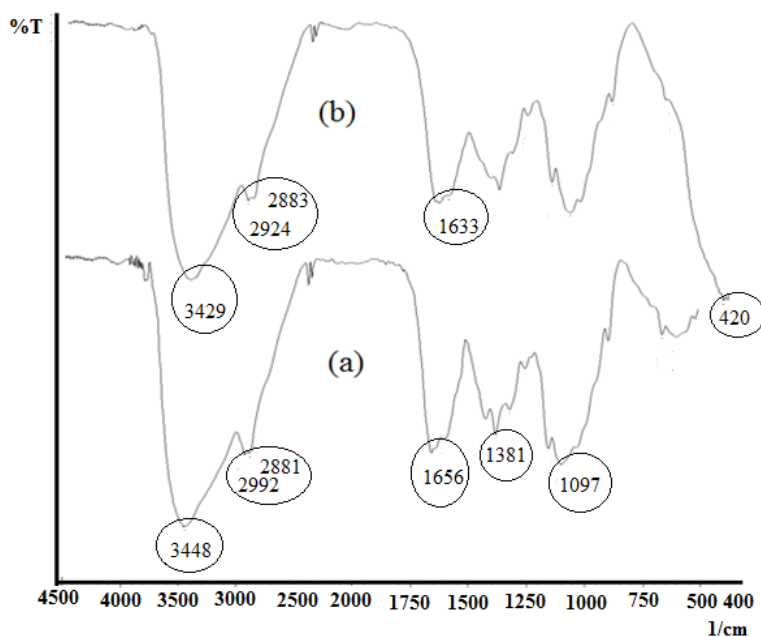
Karakterisasi

Spektrofotometer FTIR (Shimadzu Prestige-21)

digunakan untuk identifikasi gugus fungsi kitosan dan kitosan-ZnO nanopartikel dengan bantuan pelet KBr dan spektrum dicatat pada bilangan gelombang antara 4500–400 cm^{-1} . X-Ray diffractometer (Shimadzu XRD-6000), digunakan untuk evaluasi level kristalinitas dan ukuran kristalin ZnO nanopartikel (Cu K α X-ray tube pada 1.5406 Å, 30 kV dan 10mA dengan kecepatan pengamatan/durasi waktu yaitu 10.000 deg. min^{-1} dan jarak 2 θ adalah 0°–80°).

Uji antibakteri

Uji antibakteri sampel menggunakan metode difusi agar. Konsentrasi kitosan-ZnO nanopartikel yang diujikan adalah 10.000, 5.000 dan 2.500 mg/L. Kertas cakram yang telah disterilasi, masing-masing dicelupkan (± 15 detik) ke dalam larutan kitosan-ZnO nanopartikel, asam asetat (10 % v/v, sebagai larutan pembanding negatif), tetrasiklin (10.000 mg/L, sebagai larutan pembanding positif) dan ZnO nanopartikel (10.000 mg/L). Semua kertas cakram yang telah dicelupkan dalam masing-masing larutan uji diletakkan secara aseptik dalam *petridishes* (cawan petri) yang mengandung media nutrisi agar yang telah diinokulasi dengan bakteri *E. coli*. *Petridishes* diinkubasi pada suhu 37°C dan zona hambat diamati setelah 24 jam periode inkubasi.



Gambar 3. Spektra FTIR kitosan (a) dan kitosan-ZnO nanopartikel (b)

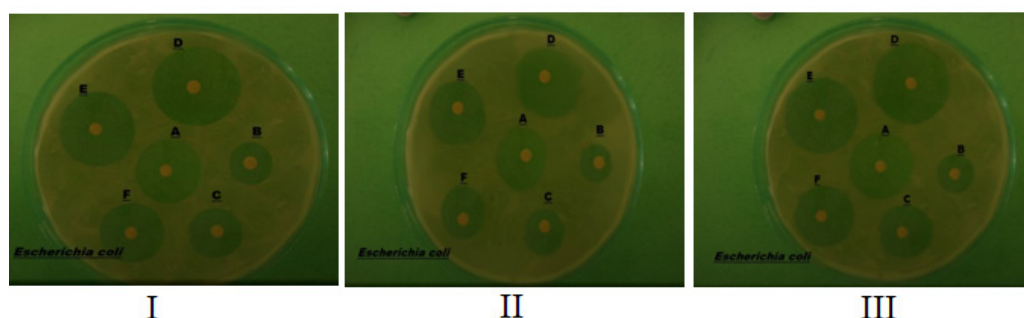
Hasil dan Diskusi

Biosintesis ZnO nanopartikel dari reaksi kimia antara seng asetat dihidrat dan ekstrak air daun jambu biji melalui mekanisme reaksi reduksi dan oksidasi seperti dalam [Gambar 1](#). Ekstrak air daun jambu biji banyak mengandung komponen metabolit seperti karbohidrat, flavonoid, alkaloid, glikosida, saponin, tanin, vitamin dan steroid [25]. Adanya komponen metabolit tersebut merupakan bagian dalam konversi senyawa logam seng menjadi logam yang berukuran nanopartikel yang spesifik. Metabolit-metabolit tersebut bertanggung jawab atas sifat pereduksi dan anti oksidan sehingga mereduksi dengan segera ion seng ke bentuk ukuran nano ZnO [13]. Ukuran partikel ZnO nanopartikel juga dipengaruhi oleh penambahan larutan NaOH [12].

Difraktogram kitosan, ZnO nanopartikel dan kitosan-ZnO nanopartikel ditunjukkan dalam [Gambar 2](#). [Gambar 2b](#) menunjukkan bahwa difraktogram ZnO nanopartikel mempunyai puncak difraksi yang tajam dan sempit (2θ : 31,82 ; 34,47 ; 36,31 ; 47,72 ; 56,70 ; 62,80 ; 67,93 dan 69,13). Hal ini menunjukkan bahwa ZnO nanopartikel tersebut mempunyai bentuk kristalin. Rumus *Debye Scherrer's* dapat digunakan untuk menghitung ukuran kristalin ZnO nanopartikel :

$$D = (0.9 \cdot \lambda / \beta \cdot \cos \theta)$$

Dimana D adalah ukuran kristalinitas, λ adalah panjang gelombang sinar X yang digunakan (1.5406 Å), β adalah *the full width at half maximum* (FWHM) dan θ adalah sudut *Bragg's* [13]. Hasil analisa menunjukkan bahwa ukuran



Gambar 4. Uji antibakteri dengan tiga kali perulangan oleh kitosan-ZnO nanopartikel (D, E dan F), ZnO nanopartikel (C), pembanding positif (A) dan pembanding negatif (B)

Tabel 1. Hasil pengamatan diameter hambatan

No.	Cawan petri	Diameter hambatan (mm)					
		Tetrasiklin (10.000 mg/L)	Asam asetat (10 % v/v)	ZnO nanopartikel (10.000 mg/L)	Kitosan-ZnO nanopartikel (mg/L)		
					10.000	7.500	2.500
1	I	25,80	17,30	21,20	30,80	25,10	23,60
2	II	25,80	16,20	19,80	29,60	27,60	24,40
3	III	24,80	16,30	19,70	31,30	25,20	21,30
Rata-rata ± SD		25,47 ± 0,57	16,60 ± 0,61	20,23 ± 0,84	30,57 ± 0,87	25,97 ± 1,42	23,10 ± 1,61

kristalit partikel ZnO nanopartikel hasil biosintesis adalah 16,50 nm jika dihitung pada 2θ : 36,31 dan FWHM 0,484 deg. Difraktogram kitosan-ZnO nanopartikel ([Gambar 2c](#)) mempunyai bentuk yang berbeda jika dibandingkan dengan difraktogram kitosan ([Gambar 2a](#)). Hal ini dimungkinkan karena terdeformasinya Ikatan hidrogen dalam struktur kimia kitosan oleh ZnO nanopartikel kedalam gugus fungsi amina primernya [\[26,27\]](#).

Ion logam Zn^{2+} terbentuk ketika kitosan dan ZnO nanopartikel dilarutkan dalam larutan asam asetat. Antara pH 6 hingga 9, terbentuk $Zn[(OH)]_2$ yang tidak stabil. Kitosan mempunyai gugus fungsi amina primer (NH_2) yang dapat berikatan dengan ion logam melalui ikatan kovalen koordinasi, dengan semakin naiknya pH hingga pH 10 maka terbentuk suatu senyawa kompleks kitosan-ZnO nanopartikel yang stabil pada pH ini [\[24\]](#).

Spektra FTIR kitosan dan kitosan-CuO nanopartikel ditunjukkan dalam [Gambar 3](#). [Gambar 3a](#) adalah spektra FTIR kitosan yang menunjukkan adanya pita serapan pada bilangan gelombang 3448 cm^{-1} , pita serapan ini adalah vibrasi ulur gugus N-H serta bertumpang tindih dengan gugus O-H. Pita serapan pada bilangan gelombang 2881-2992 cm^{-1} menunjukkan vibrasi ulur gugus C-H [\[28,29\]](#). Vibrasi ulur gugus fungsi C-O terdeteksi pada bilangan gelombang 1097 cm^{-1} [\[30\]](#). Vibrasi tekuk gugus N-H terdeteksi pada bilangan gelombang 1656 cm^{-1} [\[28,31\]](#) dan vibrasi tekuk gugus C-H muncul pada bilangan gelombang 1381 cm^{-1} [\[32\]](#).

Setelah kitosan diinteraksikan dengan ZnO nanopartikel menjadi kitosan-ZnO nanopartikel dan mempunyai spektra seperti dalam [Gambar 3b](#). Vibrasi ulur gugus N-H masih bertumpang tindih dengan gugus O-H dan mempunyai bilangan gelombang 3429 cm^{-1} . Harga atau nilai bilangan gelombang ini mengalami penurunan bila dibandingkan dengan bilangan gelombang kitosan (3448 ke 3429 cm^{-1}), hal ini menunjukkan adanya interaksi yang kuat antara gugus fungsi N-H dengan ZnO nanopartikel [\[24\]](#). Vibrasi ulur gugus C-H terdeteksi

pada bilangan gelombang 2883-2924 cm^{-1} . Vibrasi tekuk gugus N-H terdeteksi pada bilangan gelombang 1633 cm^{-1} . Spektrum kitosan-ZnO nanopartikel menampilkan pita serapan O-Zn-O. Pita serapan O-Zn-O ini terdeteksi pada bilangan gelombang 420 cm^{-1} [\[18\]](#) yang menunjukkan adanya ikatan kimia antara gugus amina primer (NH_2) kitosan dengan ZnO nanopartikel.

Hasil uji antibakteri setiap sampel terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan tiga kali perulangan disajikan dalam [Gambar 4](#). Diameter hambatan yang dihasilkan oleh tetrasiklin (pembandingan positif), asam asetat (pembandingan negatif), ZnO nanopartikel dan kitosan-ZnO nanopartikel dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* seperti terlihat dalam [Tabel 1](#).

Berdasarkan data pada [Gambar 4](#) dan [Tabel 1](#) tersebut terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi kitosan-ZnO nanopartikel maka semakin besar diameter hambatan yang dihasilkan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini didasarkan bahwa mekanisme yang terjadi antara kitosan dan bakteri adalah interaksi antara muatan positif gugus fungsi (NH_3^+) dalam kitosan dengan muatan negatif pada permukaan sel bakteri [\[33,34\]](#). ZnO nanopartikel mempunyai permukaan tekstur yang tidak rata dan kasar sehingga dapat memecahkan dinding sel bakteri dan menyebabkan dekomposisi dinding sel diikuti dengan dekomposisi membran sel bakteri [\[35\]](#).

[Gambar 4](#) terlihat bahwa pembandingan negatif (B, asam asetat 10 % v/v) mempunyai sifat antibakteri. Asam asetat dapat berfungsi sebagai antibakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Hal ini didasarkan bahwa pada senyawa asam asetat, ion H^+ akan masuk ke dalam bakteri dan akan meningkatkan jumlah atau konsentrasi H^+ dalam membran sitoplasma dan memudahkan untuk menurunkan pH sehingga sel bakteri akan lebih asam dan akan menyebabkan pertumbuhannya terhambat [\[36\]](#).

Kesimpulan

Ukuran kristalin partikel ZnO nanopartikel yang dihasilkan adalah 16,50 nm. Gugus fungsi O-Zn-O terdeteksi pada bilangan gelombang 420 cm^{-1} . Gugus fungsi Zn-O terikat dengan gugus fungsi amina primer kitosan sehingga spektra FTIR kitosan-ZnO nanopartikel mempunyai bilangan gelombang 3429 cm^{-1} . Zona hambat yang dihasilkan oleh kitosan-ZnO nanopartikel dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* meningkat dengan semakin meningkatnya konsentrasi kitosan-ZnO nanopartikel.

Ucapan Terimakasih

Kami mengucapkan terima kasih kepada Ade Yuniar dan Nurul Aniza yang telah membantu dalam menyelesaikan sebagian penelitian ini. Kepada Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi, kami mengucapkan terima kasih atas pendanaannya dalam penelitian ini dengan No. 012/STIFIBP-13/IV/2019.

Referensi

- [1] Bhatnagar A, Sillanpää M. Applications of chitin- and chitosan-derivatives for the detoxification of water and wastewater — A short review. *Adv Colloid Interface Sci.* 2009;152(1–2):26–38. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2009.09.003>
- [2] Prabakaran M. Bioactivity of Chitosan Derivative. In: *Polysaccharides*. Cham: Springer International Publishing; 2014. p. 1–14. https://doi.org/10.1007/978-3-319-03751-6_17-1
- [3] Mohanasrinivasan V, Mishra M, Paliwal JS, Singh SK, Selvarajan E, Suganthi V, et al. Studies on heavy metal removal efficiency and antibacterial activity of chitosan prepared from shrimp shell waste. *3 Biotech.* 2014;4(2):167–75. <https://doi.org/10.1007/s13205-013-0140-6>
- [4] Guibal E. Interactions of metal ions with chitosan-based sorbents: a review. *Sep Purif Technol.* 2004;38(1):43–74. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2003.10.004>
- [5] Zhang L, Zeng Y, Cheng Z. Removal of heavy metal ions using chitosan and modified chitosan: A review. *J Mol Liq.* 2016;214:175–91. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2015.12.013>
- [6] Kyzas G, Bikiaris D. Recent Modifications of Chitosan for Adsorption Applications: A Critical and Systematic Review. *Mar Drugs.* 2015;13(1):312–37. <https://doi.org/10.3390/md13010312>
- [7] Kandile NG, Nasr AS. Hydrogels based on a three component system with potential for leaching metals. *Carbohydr Polym.* 2011;85(1):120–8. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.02.004>
- [8] Dai B, Cao M, Fang G, Liu B, Dong X, Pan M, et al. Schiff base-chitosan grafted multiwalled carbon nanotubes as a novel solid-phase extraction adsorbent for determination of heavy metal by ICP-MS. *J Hazard Mater.* 2012;219–220:103–10. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.03.065>
- [9] Sathiya SM, Okram GS, Maria Dhivya S, Manivannan G, Jothi Rajan MA. Interaction of Chitosan/Zinc Oxide Nanocomposites and their Antibacterial Activities with *Escherichia coli*. *Mater Today Proc.* 2016;3(10):3855–60. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2016.11.040>
- [10] Hasnidawani JN, Azlina HN, Norita H, Bonnia NN, Ratim S, Ali ES. Synthesis of ZnO Nanostructures Using Sol-Gel Method. *Procedia Chem.* 2016;19:211–6. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2016.03.095>
- [11] Suresh J, Pradheesh G, Alexramani V, Sundrarajan M, Hong SI. Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticle using insulin plant (*Costus pictus* D. Don) and investigation of its antimicrobial as well as anticancer activities. *Adv Nat Sci Nanosci Nanotechnol.* 2018;9(1):015008. <https://doi.org/10.1088/2043-6254/aaa6f1>
- [12] Daphedar A, Taranath TC. Green synthesis of zinc nanoparticles using leaf extract of *Albizia saman* (Jacq.) Merr. and their effect on root meristems of *Drimys indica* (Roxb.) Jessop. *Caryologia.* 2018;71(2):93–102. <https://doi.org/10.1080/00087114.2018.1437980>
- [13] Vijayakumar S, Mahadevan S, Arulmozhi P, Sriram S, Praseetha PK. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Atalantia monophylla* leaf extracts: Characterization and antimicrobial analysis. *Mater Sci Semicond Process.* 2018;82:39–45. <https://doi.org/10.1016/j.mssp.2018.03.017>
- [14] Dobrucka R, Długaszewska J. Biosynthesis and antibacterial activity of ZnO nanoparticles using *Trifolium pratense* flower extract. *Saudi J Biol Sci.* 2016;23(4):517–23. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.05.016>
- [15] Geetha MS, Nagabhushana H, Shivananjai HN. Green mediated synthesis and characterization of ZnO nanoparticles using *Euphorbia Jatropa* latex as reducing agent. *J Sci Adv Mater Devices.* 2016;1(3):301–10. <https://doi.org/10.1016/j.jsamd.2016.06.015>
- [16] Gunalan S, Sivaraj R, Rajendran V. Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens. *Prog Nat Sci Mater Int.* 2012;22(6):693–700. <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2012.11.015>
- [17] Sirelkhatim A, Mahmud S, Seeni A, Kaus NHM, Ann LC, Bakhori SKM, et al. Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. *Nano-Micro Lett.* 2015;7(3):219–42. <https://doi.org/10.1007/s40820-015-0040-x>
- [18] Ahmad Yusof NA, Mat Zain N, Pauzi N. Synthesis of Chitosan/Zinc Oxide Nanoparticles Stabilized by Chitosan via Microwave Heating. *Bull Chem React Eng Catal.* 2019;14(2):450. <https://doi.org/10.9767/bcrec.14.2.3319.450-458>
- [19] Li L-H, Deng J-C, Deng H-R, Liu Z-L, Xin L. Synthesis and characterization of chitosan/ZnO nanoparticle composite membranes. *Carbohydr Res.* 2010;345(8):994–8. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2010.03.019>
- [20] Salehi R, Arami M, Mahmoodi NM, Bahrami H, Khorramfar S. Novel biocompatible composite (Chitosan–zinc oxide nanoparticle): Preparation, characterization and dye adsorption properties. *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 2010;80(1):86–93. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.05.039>
- [21] Fatoni A, Munarsih E, Asmadi K, Hidayati N. Synthesis and Characterization Chitosan-ZnO nanoparticle and Its Application as Antibacterial Agent of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Sci Technol Indones.* 2020;5(1):1. <https://doi.org/10.26554/sti.2020.5.1.1-5>
- [22] Motshekga SC, Ray SS, Onyango MS, Momba MNB. Preparation and antibacterial activity of chitosan-based nanocomposites containing bentonite-supported silver and zinc oxide nanoparticles for water disinfection. *Appl Clay Sci.* 2015;114:330–9. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2015.06.010>
- [23] Barreto MS, Andrade CT, Azero EG, Paschoalin VM, Del Aguila EM. Production of Chitosan/Zinc Oxide Complex by Ultrasonic Treatment with Antibacterial Activity. *J Bacteriol Parasitol.* 2017;08(05). <https://doi.org/10.4172/2155-9597.1000330>
- [24] Abdelhady MM. Preparation and Characterization of Chitosan/Zinc Oxide Nanoparticles for Imparting Antimicrobial and UV Protection to Cotton Fabric. *Int J Carbohydr Chem.* 2012;2012:1–6. <https://doi.org/10.1155/2012/840591>
- [25] Joseph* L, George M, Singh G, Mathews P. Phytochemical investigation on various parts of *Psidium guajava*. *Ann Plant Sci.* 2016;5(02):1265. <https://doi.org/10.21746/aps.2016.02.001>

- [26] Ding P, Huang K-L, Li G-Y, Zeng W-W. Mechanisms and kinetics of chelating reaction between novel chitosan derivatives and Zn(II). *J Hazard Mater*. 2007;146(1–2):58–64. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.11.061>
- [27] Pereira FS, Lanfredi S, González ERP, da Silva Agostini DL, Gomes HM, dos Santos Medeiros R. Thermal and morphological study of chitosan metal complexes. *J Therm Anal Calorim*. 2017;129(1):291–301. <https://doi.org/10.1007/s10973-017-6146-2>
- [28] Kumari S, Rath P, Sri Hari Kumar A, Tiwari TN. Extraction and characterization of chitin and chitosan from fishery waste by chemical method. *Environ Technol Innov*. 2015;3:77–85. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2015.01.002>
- [29] Wang J, Wang H. Preparation of soluble p-aminobenzoyl chitosan ester by Schiff's base and antibacterial activity of the derivatives. *Int J Biol Macromol*. 2011;48(3):523–9. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.01.016>
- [30] Kandile NG, Razek TMA, Al-Sabagh AM, Khattab MMT. Synthesis and evaluation of some amine compounds having surface active properties as H₂S scavenger. *Egypt J Pet*. 2014;23(3):323–9. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2014.08.008>
- [31] Mohammed MH, Williams PA, Tverezovskaya O. Extraction of chitin from prawn shells and conversion to low molecular mass chitosan. *Food Hydrocoll*. 2013;31(2):166–71. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.10.021>
- [32] Huang R, Yang B, Liu Q. Removal of chromium(VI) Ions from aqueous solutions with protonated crosslinked chitosan. *J Appl Polym Sci*. 2013;129(2):908–15. <https://doi.org/10.1002/app.38685>
- [33] Kumar S, Dhar DN, Saxena PN. Applications of metal complexes of Schiff bases-A review. *J Sci Ind Res*. 2009;68:181–7.
- [34] Benhabiles MS, Salah R, Lounici H, Drouiche N, Goosen MFA, Mameri N. Antibacterial activity of chitin, chitosan and its oligomers prepared from shrimp shell waste. *Food Hydrocoll*. 2012;29(1):48–56. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.02.013>
- [35] Padmavathy N, Vijayaraghavan R. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles—an antimicrobial study. *Sci Technol Adv Mater*. 2008;9(3):035004. <https://doi.org/10.1088/1468-6996/9/3/035004>
- [36] Sedira S, Ayachi AA, Lakehal S, Fateh M, Achour S. Silver nanoparticles in combination with acetic acid and zinc oxide quantum dots for antibacterial activities improvement—A comparative study. *Appl Surf Sci*. 2014;311:659–65. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2014.05.132>



Copyright © 2020 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)