

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

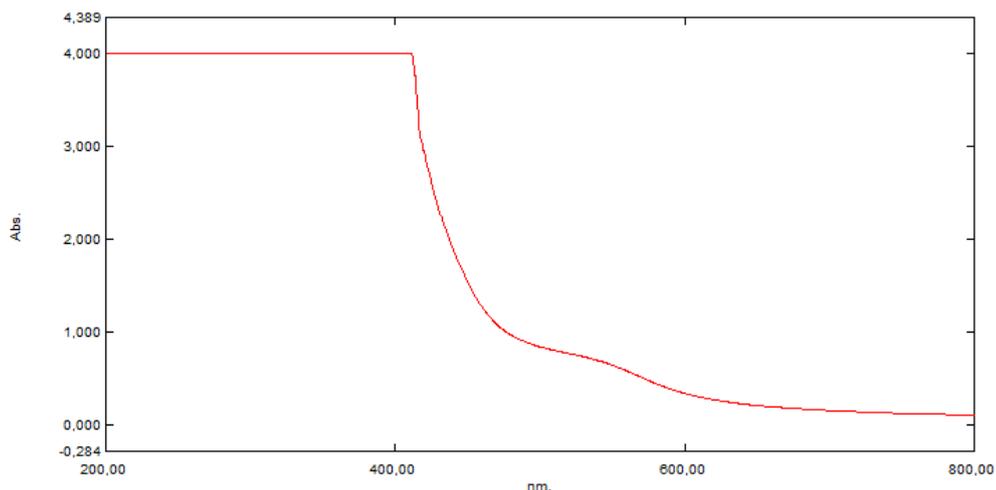
4.1 Umum

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari penelitian sebelumnya yaitu penelitian Kumar, *et al.* (2015) yang mengkaji tentang fabrikasi nanopartikel perak menggunakan ekstrak kulit rambutan. Dimana pada penelitian sebelumnya belum diaplikasikan menjadi antibakteri langsung terhadap bakteri diuji sedangkan dalam penelitian ini akan di aplikasikan langsung terhadap bakteri uji (*Salmonella parathypi A*). Penelitian ini dilakukan beberapa modifikasi yaitu kulit rambutan yang akan digunakan telah dibekukan sebelumnya. Tahap pertama yang dilakukan adalah mengumpulkan, mencuci bersih dan mentiriskan kulit rambutan kemudian dibekukan di dalam lemari pendingin (*Freezer*). Kemudian kulit rambutan yang akan digunakan ditimbang dan dicuci kembali. Langkah selanjutnya adalah membuat ekstraksi kulit rambutan dengan cara memanaskan kulit rambutan dengan *aquadest*. Setelah kulit rambutan selesai diekstrak, dilakukan penyaringan dengan kertas Whatzman No. 42. Ekstrak kulit rambutan ini kemudian digunakan untuk mensintesis nanopartikel perak. Tahap berikutnya yaitu mengambil larutan AgNO_3 0,1 M sebanyak 10 ml dan menambahkan ekstrak kulit rambutan sebanyak 1 ml. Kemudian dilakukan penghomogenan dan didiamkan selama ± 3 jam. Selanjutnya dicek pH larutan tersebut (pH larutan= 8/ basa). Setelah sintesis nanopartikel perak telah terbentuk, larutan bisa langsung digunakan atau disimpan di lemari pendingin untuk digunakan kembali. Langkah berikutnya melakukan uji karakterisasi UV-Vis, FTIR dan SEM untuk mengetahui perubahan fisik dan kimia dari sintesis nanopartikel perak dan kulit rambutan. Pada tahap ketiga ini, persiapan isolasi bakteri untuk stok dari kultur murni. Setelah biakan bakteri siap, dilakukan inokulasi bakteri ke dalam media NB (*Nutrien Broth*). Hal ini dilakukan untuk persiapan pembiakan bakteri dengan metode *spread plate*. Langkah berikutnya adalah persiapan media uji dengan menggunakan media NA (*Nutrien Agar*). Kemudian media NA steril dimasukan

ke dalam cawan petri hingga semi padat dan dilakukan isolasi bakteri dengan metode *spread plate*. Selanjutnya ditunggu beberapa saat hingga bakteri yang disebar mulai meresap. Langkah berikutnya adalah membuat lubang/ sumuran pada media NA sebanyak 4 sumuran. Selanjutnya sumuran diisi dengan larutan yang akan diuji. Kemudian diinkubasi di dalam autoklaf selama 20 jam untuk melihat diameter zona bening yang tidak ditumbuhi oleh bakteri.

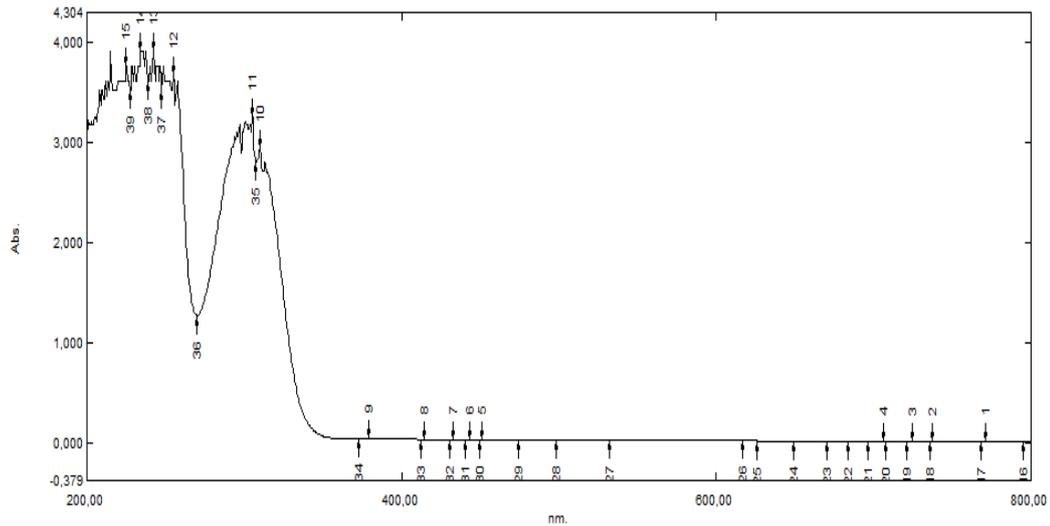
4.2 Karakterisasi UV-Vis

Karakteristik UV-Vis dari RPE (*Rambutan Peel Extract*) dapat dilihat pada gambar 4.1. Ekstrak rambutan ini berwarna merah terang. Pada *range* panjang gelombang 200 - 800 nm tidak didapatkan nilai *spectrum peak* karena absorbansinya cenderung mengalami penurunan. Larutan AgNO_3 berwarna bening, karakteristik UV-Vis larutan dapat dilihat pada gambar 4.2. Pada *range* panjang gelombang 200 – 800 nm, spektrum menunjukkan puncak serapan pada panjang gelombang 305 nm.



Gambar 4.1. Grafik Karakterisasi UV-Vis dari RPE (*Rambutan Peel Extract*)

Sumber: Data Primer, 2017

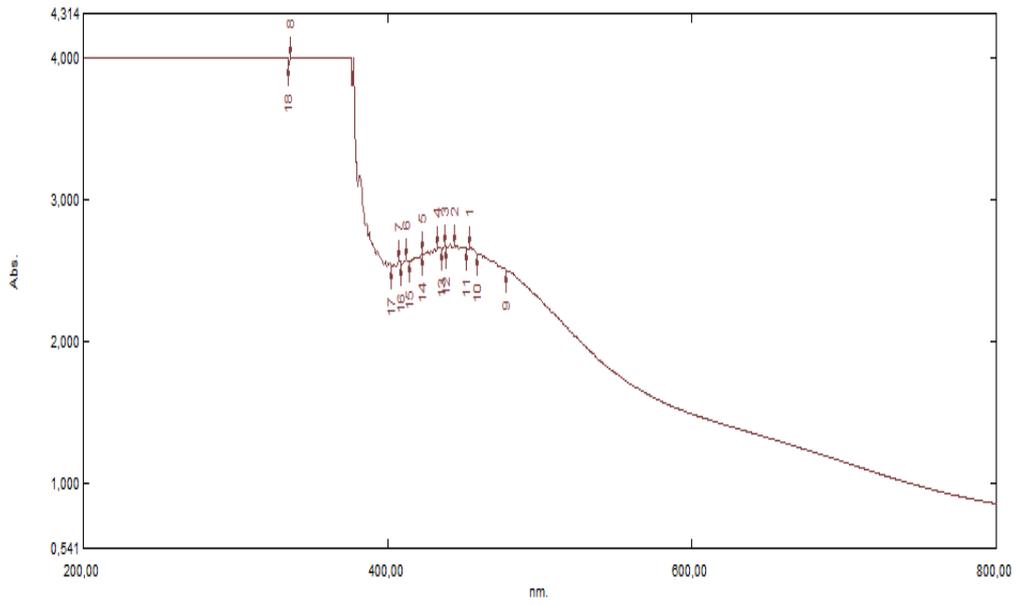


Gambar 4.2 Grafik Karakterisasi UV-Vis dari Larutan AgNO₃

Sumber: Data Primer, 2017

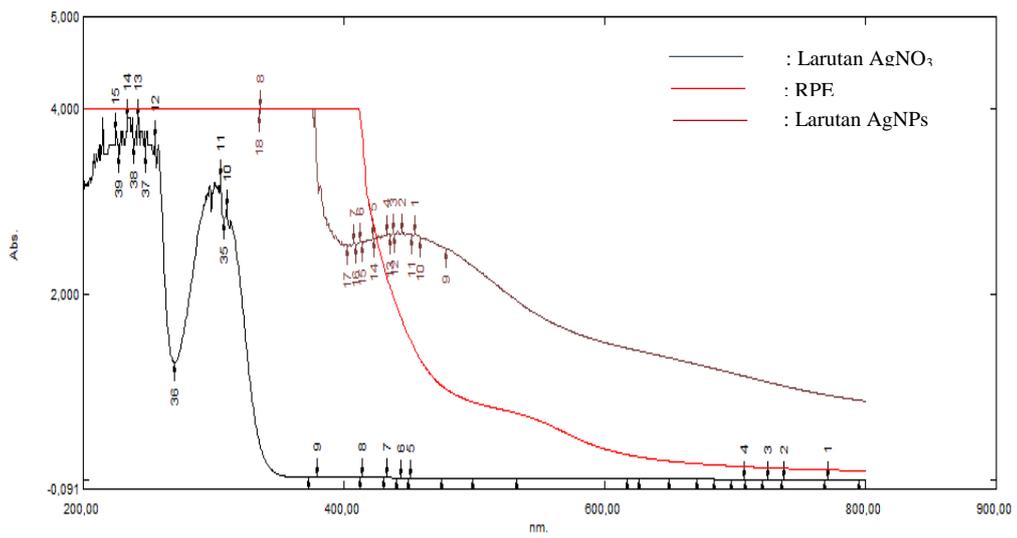
Karakteristik UV-Vis larutan AgNPs menggunakan ekstrak kulit rambutan dapat dilihat pada Gambar 4.3. Berdasarkan penelitian, larutan AgNPs pada awalnya berwarna kuning sedikit kecokelatan berubah menjadi cokelat kemerahan. Hal ini membuktikan bahwa larutan tersebut sudah mengalami sintesis menjadi koloid nanopartikel. Nilai absorbansi puncak tertingginya yaitu pada panjang gelombang 437,50 nm - 444 nm.

Larutan koloid nanopartikel perak memberikan puncak absorpsi pada panjang gelombang di sekitar 400 nm yang menunjukkan puncak serapan permukaan plasmon khas nanopartikel perak. Plasmon adalah sifat eksitasi kolektif konduksi elektron pada suatu logam (Xie, *et al.*, 2006; Sileikaite, *et al.*, 2006). Pola serapan dan panjang gelombang maksimum menjadi dasar monitoring pembentukan nanopartikel perak dimana koloid perak memberikan puncak serapan absorpsi pada panjang gelombang disekitar 400-500 nm yang menunjukkan puncak serapan plasmon khas nanopartikel perak (Wahyudi, *et al.*, 2011). Sehingga larutan AgNPs dibandingkan RPE (*Rambutan Peel Ekstrak*) dan larutan AgNO₃ pada penelitian ini telah menunjukkan puncak serapan plasmon khas nanopartikel perak. Puncak serapan plasmon khas nanopartikel perak terjadi pada panjang gelombang 437,50 nm- 444 nm. (Lihat Gambar 4.4)



Gambar 4.3 Grafik Karakterisasi UV-Vis dari Larutan AgNPs

Sumber: Data Primer, 2017

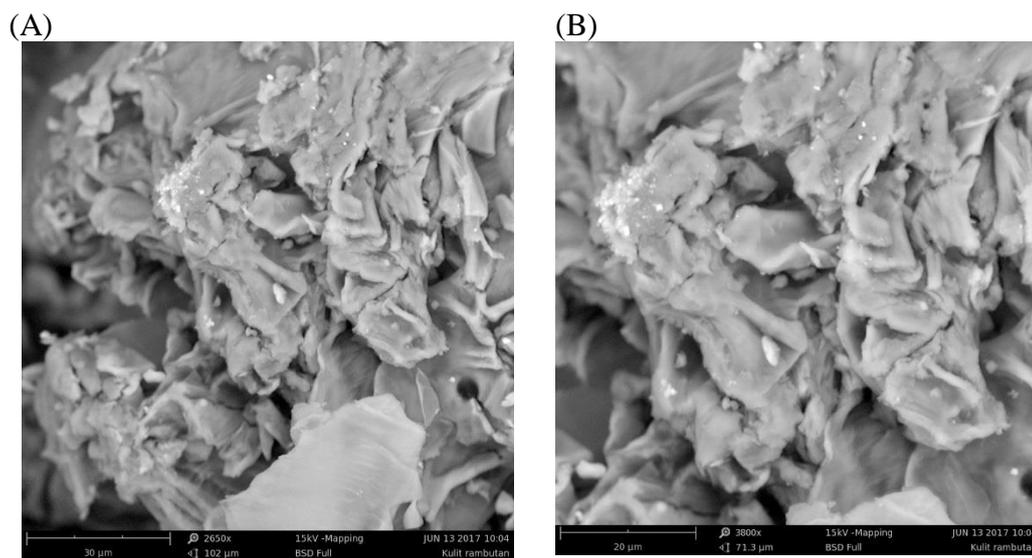


Gambar 4.4 Grafik Karakterisasi UV-Vis Perbandingan Ketiga Grafik

Sumber: Data Primer, 2017

4.3 Karakterisasi SEM-EDX

Tujuan penguasaan alat SEM (*Scanning Electron Microscopy*) adalah untuk mengetahui gambaran bentuk permukaan material yang diuji. Sedangkan EDX (*Energy Dispersive X-ray*) bertujuan mengetahui komposisi molekul sampel. Terutama pada EDX AgNPs, bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan Ag dalam sampel. Hasil karakterisasi SEM untuk kulit rambutan disajikan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5. SEM (*Scanning Electron Microscopy*) Kulit Rambutan

Sumber: Data Primer, 2017

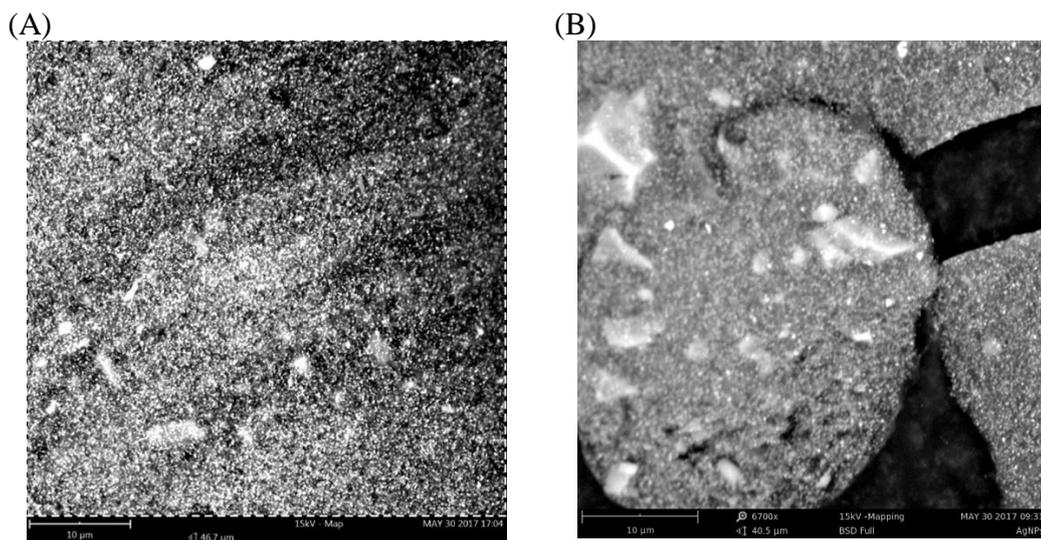
Tabel 4.1. Tabel Komponen EDS Kulit Rambutan

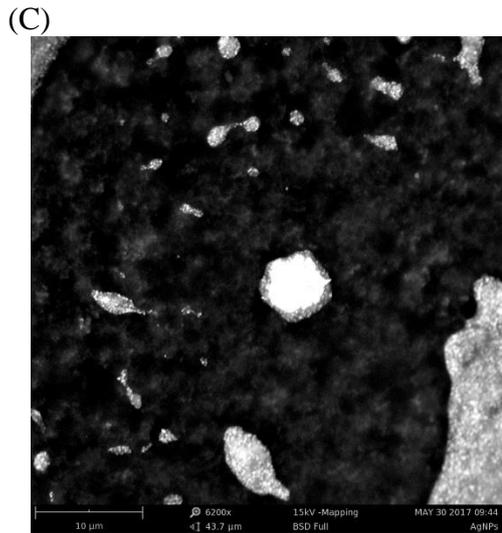
Element Number	Element Symbol	Element Name	Atomic Concentration
6	C	Carbon	13.4
8	O	Oxygen	85.3

Pada Tabel 4.1., komponen-komponen unsur yang terdapat pada kulit rambutan antara lain adalah konsentrasi karbon (C) sebanyak 13,4 dan konsentrasi oksigen (O) sebanyak 79. Sehingga, unsur-unsur yang terdapat pada kulit

rambutan yaitu O dan C. Kadar karbon dan oksigen tinggi disebabkan kandungan protein dan serat yang cukup tinggi.

Pada penelitian ini, sintesis AgNPs menggunakan ekstrak kulit rambutan yang akan digunakan untuk pengujian SEM berbentuk larutan. Sehingga sampel perlu diberikan perlakuan sebelum dilakukan analisis menggunakan SEM dan EDS. Perlakuan yang diberikan yaitu dengan cara dilakukan pengovenan selama \pm 24 jam. Hasil dari pengovenan ini yaitu sampel yang berubah bentuk menjadi *semi solid*. Kemudian dilakukan analisis menggunakan SEM dan EDS. Hasil analisis menggunakan SEM dapat dilihat pada Gambar 4.6. Kemampuan karakterisasi SEM yang terbatas menimbulkan bentuk dan ukuran pasti nanopartikel yang diteliti kurang akurat. Bentuk yang terlihat berupa titik - titik koloid nanopartikel perak yang telah terbentuk. Dapat dilihat juga pada penelitian Kumar, *et al.*, (2015) kolid nanopartikel perak memiliki bentuk trigonal maupun heksagonal dengan ukuran $132,6 \pm 42$ nm.





Gambar 4.6. SEM (*Scanning Electron Microscopy*) Sintesis AgNPs dititik yang berbeda menggunakan Ekstrak Kulit Rambutan: (A) *Scanning* perbesaran 5700x ; (B) *Scanning* perbesaran 6700x ; (C) *Scanning* perbesaran 6200x

Sumber: Data Primer, 2017

Tabel 4.2. Tabel Komponen EDS Sintesis AgNPs menggunakan Ekstrak Kulit Rambutan

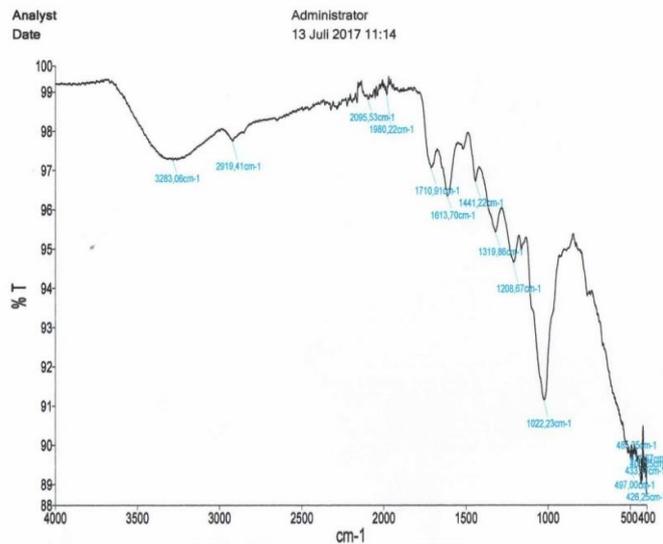
Element Number	Element Symbol	Element Name	Atomic Concentration
8	O	Oxygen	79.0
47	Ag	Silver	2.9
19	K	Potassium	2.5
11	Na	Sodium	6.9
20	Ca	Calcium	1.4
12	Mg	Magnesium	2.8

Pada Tabel 4.2., komponen-komponen unsur yang terdapat pada larutan sintesis AgNPs menggunakan ekstrak kulit rambutan antara lain adalah konsentrasi oksigen (O) sebanyak 79 %, konsentrasi perak (Ag) sebanyak 2,9 %, konsentrasi kalium (K) sebanyak 2,5 %, konsentrasi natrium (Na) sebanyak 6,9

%, konsentrasi kalsium (Ca) sebanyak 1,4 %, konsentrasi magnesium (Mg) sebanyak 2,8 %. Kadar oksigen sangat besar karena sampel yang digunakan berupa *semi solid* dan kandungan protein maupun serat dalam kulit rambutan cukup tinggi. Sehingga, unsur-unsur yang terdapat pada sintesis AgNPs menggunakan ekstrak kulit rambutan yaitu Ag, K, Na, Ca, O dan Mg. Menurut Nurjannah dan Ihsan, (2013), rambutan juga mengandung vitamin C, termasuk kalium, zat besi, beta-karoten atau vitamin A, kalsium, magnesium, seng, natrium, niasin, serat dan protein. Penelitian juga telah membuktikan bahwa daging buah rambutan, biji dan kulitnya mengandung antioksidan kuat yang disebut flavonoid, yang dikenal mampu mengurangi kadar kolestrol. Sehingga kandungan K, Na, Ca dan Mg dapat berasal dari sari buah rambutan yang masih menempel pada kulit ari/ selaput putih kulit rambutan. Karena sifat ekstrak kulit rambutan yang mudah larut dalam air menyebabkan pencucian kulit rambutan tidak dilakukan berulang. Perlakuan tersebut dilakukan agar kandungan ekstrak kulit rambutan yang dibutuhkan dalam biosintesis tidak banyak terbuang terbuang.

4.4 Karakterisasi FTIR

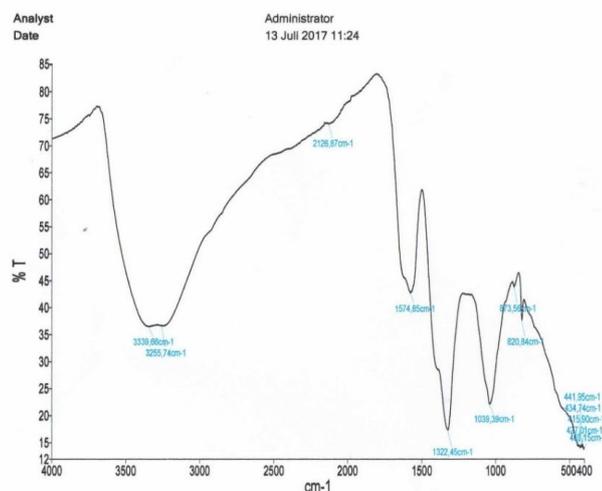
Spektrum karakterisasi FTIR dari kulit rambutan dapat dilihat pada Gambar 4.7. Serapan bubuk kulit rambutan pada ν (bilangan gelombang) $3283,06 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan ciri serapan dari gugus O-H dengan pita yang melebar dan kuat. Pergeseran bilangan gelombang menunjukkan bahwa terjadi interaksi antara gugus fungsi dengan nanopartikel perak karena terjadinya proses oksidasi akibat proses reduksi nanopartikel perak (Payapo, *et al.*, 2016). Serapan pada $\nu = 1710,91 \text{ cm}^{-1}$ dan $1613,70 \text{ cm}^{-1}$ terdapat gugus C=O dan -COOH getaran peregangan dari kelompok flavonoid/fenolik. Pada pita dengan intensitas rendah $1319,86 \text{ cm}^{-1}$, $1208,67 \text{ cm}^{-1}$ dan $1022,23 \text{ cm}^{-1}$ dapat dikaitkan dengan gugus C=C dan C-O getaran peregangan dari kelompok olefinik dan aromatik, sedangkan pada intensitas tinggi $405,25 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan ciri serapan dari gugus C-O-C dan getaran sekunder -OH struktur polisakarida/protein dari bubuk kulit rambutan (Kumar, *et al.*, 2014; Kumar, *et al.*, 2015 & Njoku, *et al.*, 2014 dalam Kumar, *et al.*, 2015).



Gambar 4.7. Grafik Karakterisasi FTIR dari Kulit Rambutan (*Rambutan Peel*)

Sumber: Data Primer, 2017

Spektrum FTIR pada Gambar 4.8 memperlihatkan ν 3339,66 cm⁻¹ pada gugus O-H. Hal ini menyatakan bahwa gugus O-H dan C=O dari biomolekul terlibat dalam proses reduksi dan adsorpsi di permukaan AgNPs sedangkan gugus -COOH terlibat dalam proses stabilisasi AgNPs (Kumar, *et al.*, 2014; Kumar, *et al.*, 2015 & Njoku, *et al.*, 2014 dalam Kumar, *et al.*, 2015).

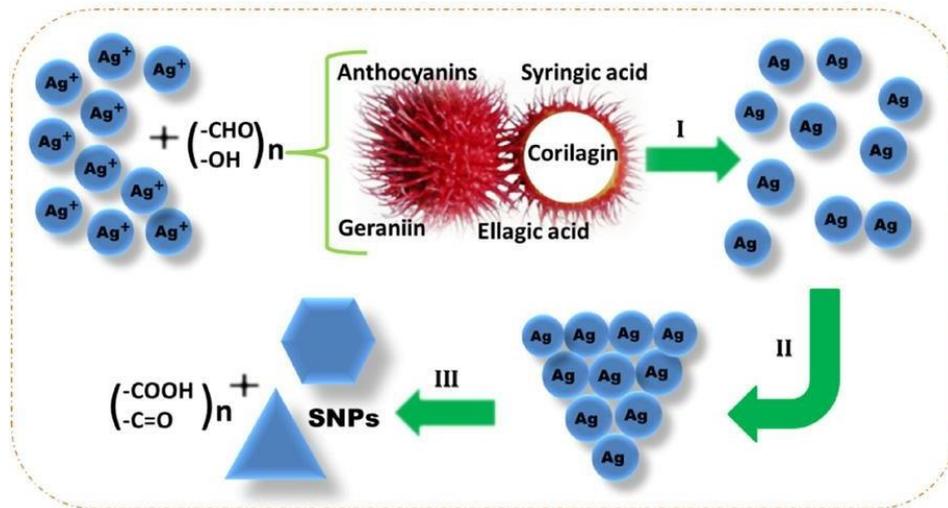


Gambar 4.8. Grafik Karakterisasi FTIR dari AgNPs menggunakan Ekstrak Kulit Rambutan

Sumber: Data Primer, 2017

Pergeseran bilangan gelombang menunjukkan bahwa terjadi interaksi antara gugus fungsi dengan nanopartikel perak karena terjadinya proses oksidasi akibat proses reduksi nanopartikel perak (Payapo, *et al.*, 2016). Kulit rambutan sebelum dikarakterisasi melewati proses pengovenan dan memiliki bentuk bubuk. Sehingga, hasil yang didapatkan tidak dapat dibandingkan dengan larutan AgNPs. Karena larutan AgNPs pada penelitian ini menggunakan ekstrak kulit rambutan yang pelarutnya merupakan akuades. Tetapi pada proses ini menunjukkan adanya proses oksidasi dan reduksi.

Mekanisme yang mungkin terjadi antara biomolekul ekstrak kulit rambutan dalam mempengaruhi proses reduksi ion Ag^+ mengalami stabilisasi menjadi AgNPs (trigonal dan heksagonal) dapat dilihat pada Gambar 4.9. Hal ini rasional jika biomolekul ekstrak kulit rambutan memainkan peran kunci dalam pertumbuhan isotropik kristal tunggal ini, bertindak sebagai agen pereduksi ringan untuk ion Ag^+ dan agen penutup untuk partikel Ag (Gambar 4.9, langkah I). Ion Ag^+ dapat berinteraksi dengan gugus O-H atau -CHO biomolekul ekstrak kulit rambutan, kemudian mengalami oksidasi ke gugus -C=O dan -COOH terbentuk mengakibatkan reduksi Ag^+ ke AgNPs. Adsorpsi biomolekul ekstrak kulit rambutan pada sisi kristal tertentu memaksa terbentuknya biji atom Ag kembar akibat kesalahan penumpukan energi yang lebih rendah (Cao, *et al.*, 2008 dalam Kumar, *et al.*, 2015). Selain itu, evolusi morfologi sintesis AgNPs dikontrol secara kinetika melalui ligan / Metode yang dimediasi chelate. Proses nukleasi dan pertumbuhan AgNPs dapat dikaitkan dengan perubahan nanopartikel Ag kecil menjadi geometri partikel lainnya melalui proses pematangan Ostwald (Gambar 4.9, Langkah II dan III) (An, *et al.*, 2007 & Liu, *et al.*, 2010 dalam Kumar, *et al.*, 2015). Berdasarkan mekanisme pada Gambar 4.9, dapat disimpulkan bahwa gugus -COOH pada biomolekul ekstrak kulit rambutan berfungsi sebagai ligan penstabil pada AgNPs untuk mencegah mereka dari penggabungan (Kumar, *et al.*, 2015).

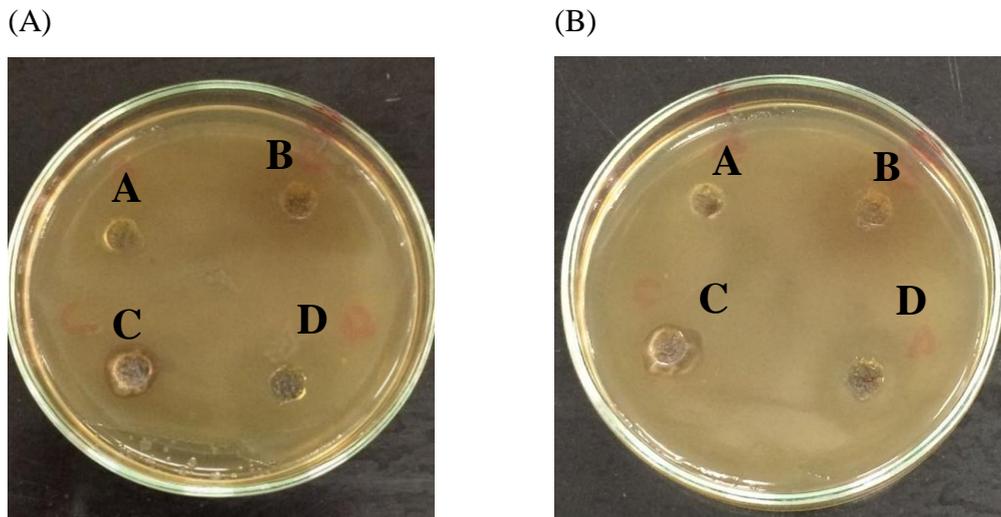


Gambar 4.9. Mekanisme reduksi ion Ag^+ dan stabilisasi AgNPs menggunakan ekstrak kulit rambutan

Sumber: Kumar, et al. (2015)

4.5 Uji Aktivitas Antibakteri *Salmonella paratyphi A*.

Pengujian aktivitas antibakteri *Salmonella paratyphi A* yang diketahui sebagai bakteri gram negatif menggunakan metode pengujian *Standard Agar Well Diffusion*. Hal ini bertujuan untuk mengetahui zona tumbuh bakteri yang mengalami hambatan. Dengan cara berberapa variasi yaitu *blank* sebagai kontrol negatif, Chloramphenicol 40 ppm sebagai kontrol positif, RPE (*Rambutan Peel Extract*) dan sintesis AgNPs menggunakan ekstrak kulit rambutan yang telah dibuat. Dari penelitian ini didapatkan hasil seperti pada Tabel 4.3.



**Gambar 4.10. Gambar Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri secara duplo
(A) Kode 1 dan (B) Kode 2**

Sumber: Data Primer, 2017

Tabel 4.3. Tabel Pengukuran Uji Aktivitas Antibakteri *Salmonella paratyphi* A.

Diameter sumuran 6 mm	Setelah Diinkubasi selama 20 jam			
	Diameter Zona Bening Pengukuran (mm)		Diameter Zona Bening Pengukuran Rata-Rata	Diameter Zona Hambat (mm)
Sumuran	1	2		
A: Blank (kontrol negatif)	Tidak ada	Tidak ada	0	0
B: RPE (<i>Rambutan Peel Extract</i>)	7	7	7	1
C: Larutan AgNPs	9	10	9,5	3,5
D: Chloramphenicol 40 ppm (kontrol positif)	13	11	12	6

Sumber: Data Primer, 2017

Pengukuran Zona hambat

$$\text{Zona hambat} = A - B$$

Keterangan:

A= Diameter pengukuran (mm)

B= Diameter sumuran (mm)

Hasil dari penelitian ini (lihat Tabel 4.3.), pada sumuran A: *Blank* (sumuran yang tidak diberikan perlakuan) bahwa kedua cawan petri tidak didapatkan adanya zona bening. Hal ini disebabkan karena, sumuran tidak diberikan larutan yang mengandung senyawa antibakteri. Sehingga bakteri akan tumbuh dan berkembang biak pada daerah sekitar dan pada sumuran tersebut. Pada sumuran yang diisi RPE (*Rambutan Peel Extract*), terdapat zona bening disekitar sumuran (lihat Tabel 4.3.). Sehingga diketahui bahwa RPE mengandung senyawa antibakteri yang sedikit resisten terhadap bakteri *Salmonella paratyphi* A. Larutan AgNPs pada sumuran C dapat dilihat pada pengukuran Tabel 4.3. memiliki zona bening disekitar sumuran. Jika dibandingkan dengan zona bening yang terdapat pada sumuran D, sintesis AgNPs menggunakan ekstrak kulit rambutan memiliki efektivitas daya hambat yang hampir mendekati Chloramphenicol 40 ppm terhadap bakteri *Salmonella paratyphi* A.