

**SINTESIS NANOPARTIKEL PERAK MENGGUNAKAN  
MINYAK ATSIRI BIJI PALA (*MYRISTICA FRAGRANS  
HOUTT*) (EO-AgNPs) DAN APLIKASINYA SEBAGAI  
PENGHAMBAT PERTUMBUHAN *LICHEN* PADA BATUAN**

***SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING NUTMEG  
SEEDS OIL (*MYRISTICA FRAGRANS HOUTT*) (EO-AgNPs)  
AND APPLICATION TO INHIBIT THE GROWTH OF LICHEN  
ON STONES***

**TESIS**



**MELISA I. SIRAJUDDIN**

**NIM: 19923007**

**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA  
JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
YOGYAKARTA  
2022**

**SINTESIS NANOPARTIKEL PERAK MENGGUNAKAN  
MINYAK ATSIRI BIJI PALA (*MYRISTICA FRAGRANS  
HOUTT*) (EO-AgNPs) DAN APLIKASINYA SEBAGAI  
PENGHAMBAT PERTUMBUHAN *LICHEN* PADA BATUAN**

***SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING NUTMEG  
SEEDS OIL (*MYRISTICA FRAGRANS HOUTT*) (EO-AgNPs)  
AND APPLICATION TO INHIBIT THE GROWTH OF LICHEN  
ON STONES***

**TESIS**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Magister Sains (M.Si)



**Diajukan oleh:**

**MELISA I. SIRAJUDDIN**

**NIM: 19923007**

**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA  
JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
YOGYAKARTA  
2022**

## SURAT PERNYATAAN

Nama : Melisa I. Sirajuddin  
Tempat dan tanggal lahir : Makian, 22 Desember 1998  
Nomor Induk Mahasiswa : 19923007  
Konsentrasi : Material untuk Energi & Lingkungan  
Judul tesis : SINTESIS NANOPARTIKEL PERAK  
MENGUNAKAN MINYAK ATSIRI BIJI PALA  
(*MYRISTICA FRAGRANS HOUTT*) (EO-AgNPs)  
DAN APLIKASINYA UNTUK MENGHAMBAT  
PERTUMBUHAN *LICHEN* PADA BATUAN

Menyatakan bahwa tesis ini secara keseluruhan adalah hasil penelitian/karya saya sendiri, kecuali pada bagian-bagian yang dirujuk sumbernya. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa tesis ini adalah hasil plagiasi, maka saya siap untuk dicabut gelar magister yang dianugerahkan dan mendapatkan sanksi sesuai ketentuan yang berlaku.

Yogyakarta, 17 April 2022



Melisa I. Sirajuddin

**HALAMAN PENGESAHAN TESIS**

**SINTESIS NANOPARTIKEL PERAK MENGGUNAKAN MINYAK  
ATSIRI BIJI PALA (*MYRISTICA FRAGRANS HOUTT*) (EO-AgNPs) DAN  
APLIKASINYA SEBAGAI PENGHAMBAT PERTUMBUHAN *LICHEN*  
PADA BATUAN**

**Diajukan oleh:  
MELISA I. SIRAJUDDIN  
NIM: 19923007**

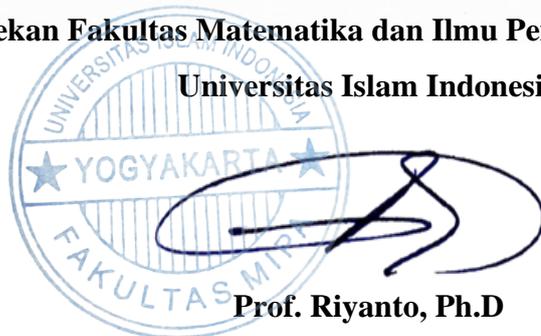
Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Tesis  
Program Studi Magister Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia

1. **Prof. Riyanto S.Pd., M.Si., Ph.D**  
(Dosen Pembimbing 1)
2. **Dr. Nahar Cahyandaru, S.Si., M.A**  
(Dosen Pembimbing 2)
3. **Drs. Allwar, M.Sc, Ph.D**  
(Dosen Penguji 1)
4. **Dr. Tatang Shabur Julianto, S.Si, M.Si**  
(Dosen Penguji 2)



**Mengetahui**

**Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia**



**Prof. Riyanto, Ph.D**

## ABSTRAK

### SINTESIS NANOPARTIKEL PERAK MENGGUNAKAN MINYAK ATSIRI BIJI PALA (*MYRISTICA FRAGRANS HOUTT*) (EO-AgNPs) DAN APLIKASINYA SEBAGAI PENGHAMBAT PERTUMBUHAN *LICHEN* PADA BATUAN

Melisa I. Sirajuddin

19923007

Telah dilakukan penelitian yang berjudul sintesis nanopartikel perak menggunakan minyak atsiri biji pala (*Myristica Fragrans Houtt*) (EO-AgNPs) dan aplikasi sebagai penghambat pertumbuhan *lichen* pada batuan. Penelitian ini bertujuan mensintesis EO-AgNPs sebagai biopestisida untuk mengetahui aktivitas daya hambat pertumbuhan lichen pada batuan. EO-AgNPs dipreparasi menggunakan metode *green synthesis* yang cenderung ramah lingkungan dengan prinsip penggunaan bahan-bahan organik sebagai pereduksi, dalam penelitian ini menggunakan minyak atsiri biji pala sebagai reduktor. Pembuatan EO-AgNPs dilakukan dengan penambahan serbuk AgNO<sub>3</sub> secara langsung dalam minyak atsiri biji pala. Parameter uji yang dilakukan dalam penelitian ini diantaranya variasi waktu penyimpanan larutan EO-AgNPs terhadap kestabilan bahan uji, pengaruh konsentrasi AgNO<sub>3</sub>, pengaruh penambahan surfaktan Tween 80 dan ko-surfaktan PEG 400 dan efek penambahan stabilisator Tween 80 terhadap ukuran partikel. Dilakukan karakterisasi EO-AgNPs menggunakan Spektrofotometer UV-Vis, FTIR, PSA dan SEM-EDX. Bahan yang telah disintesis diuji efektivitasnya pada permukaan batuan dan diukur zona hambatnya. Hasil sintesis EO-AgNPs menandakan perubahan warna larutan menjadi cokelat tua mengindikasikan proses reduksi telah berhasil dengan serapan panjang gelombang 437 nm dan cenderung stabil. Hasil sintesis EO-AgNPs menggunakan PSA dan SEM-EDX menunjukkan ukuran partikel 454,8 nm dan berbentuk bulat dengan kandungan unsur Ag, C, O pada presentase 59,07%, 28,94% dan 11,99%. Hasil karakterisasi PSA dan SEM-EDX, EO-AgNPs dengan penambahan surfaktan Tween 80 dan PEG 400 menunjukkan ukuran partikel 235 nm dan 406,2 nm memiliki bentuk bulat dan tidak seragam, dengan presentase kandungan unsur C;74%, O;19,66%, N;6,03 %, Ag;0,06% dan C;47%, Ag 32,57%, O; 18,08% dan N; 1,74%. Hasil karakterisasi menggunakan PSA dan SEM-EDX efek penambahan stabilisator Tween 80 dengan konsentrasi AgNO<sub>3</sub> 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1,0 mM memiliki ukuran partikel masing-masing 138,3; 299,9; 439,9; 389,8; 248,4 nm dengan bentuk morfologi tidak seragam dan kandungan unsur C, O, Ag dan N. Hasil pengamatan larutan EO-AgNPs terbukti efektif sebagai anti-lichen pada permukaan batu candi dan memiliki zona hambat dengan intensitas kuat terhadap *lichen* daripada minyak biji pala murni.

Kata kunci: minyak atsiri biji pala, nanopartikel perak, biopestisida, *anti-lichen*.

## ABSTRACT

### ***SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING NUTMEG SEEDS OIL (MYRISTICA FRAGRANS HOUTT) (EO-AgNPs) AND APPLICATION TO INHIBIT THE GROWTH OF LICHEN ON STONES***

**Melisa I. Sirajuddin  
19923007**

A study entitled the synthesis of silver nanoparticles using nutmeg seed oil (*Myristica Fragrans Houtt*) (EO-AgNPs) has been carried out and its application as an inhibitor of moss growth on rocks. This study aims to synthesize EO-AgNPs as biopesticides to determine the activity of inhibiting the growth of mosses on rocks. EO-AgNPs were prepared using a green synthesis method which tends to be environmentally friendly with the principle of using organic materials as reducing agents, in this study using nutmeg seed oil as a reducing agent. The manufacture of EO-AgNPs was carried out by adding AgNO<sub>3</sub> powder directly to nutmeg oil. The test parameters carried out in this study included variations in the storage time of the EO-AgNPs solution on the stability of the test material, the effect of AgNO<sub>3</sub> concentration, the effect of adding surfactant Tween 80 and co-surfactant PEG 400 and the effect of adding stabilizer Tween 80 on particle size. Characterization of EO-AgNPs using UV-Vis Spectrophotometer, FTIR, PSA and SEM-EDX. The synthesized material was tested for its effectiveness on the rock surface and the zone of inhibition was measured. The results of the synthesis of EO-AgNPs indicated a change in the color of the solution to dark brown, the reduction process was successful with an absorption wavelength of 437 nm and tends to be stable. The results of the synthesis of EO-AgNPs using PSA and SEM-EDX showed a particle size of 454.8 nm and spherical in shape with Ag, C, O content in the percentages of 59.07%, 28.94% and 11.99%. The results of the characterization of PSA and SEM-EDX, EO-AgNPs with the addition of surfactants Tween 80 and PEG 400 showed that the particle sizes of 235 nm and 406.2 nm had round and non-uniform shapes, with elements C;74%, O;19.66%, N;6.03%, Ag;0.06% and C;47%, Ag 32.57%, O; 18.08% and N; 1.74%. Characterization results using PSA and SEM-EDX the effect of adding stabilizer Tween 80 with AgNO<sub>3</sub> concentration 0.2; 0.4; 0.6; 0.8 and 1.0 mM have a particle size of 138.3, respectively; 299.9; 439.9; 389.8; 248.4 nm with non-uniform morphology and the content of C, O, Ag and N elements. The results of observations of EO-AgNPs proved to be effective as an anti-lichen on the stone surface of the temple and had a zone of inhibition with a strong intensity against mosses.

*Keywords: nutmeg seed oil, silver nanoparticles, biopesticide, anti-Lichen.*

## KATA PENGANTAR



*Assalamu' alaikumwarahmatullaahi wabarakatuh*

*Alhamdulillah, wassholaatu wassalamu 'alaa Rosulillahi, wa'alaa 'aalihiwashobihi waman waalah.* Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya serta shalawat dan salam senantiasa turunkan kepada *Akhirul anbiyaa' Nabiyallah* Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat dan seluruh pengikutnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir Tesis pada program Magister Kimia di Universitas Islam Indonesia dengan baik (Alhamdulillah). Tesis ini disusun sebagai salah satu syarat akademis yang harus dipenuhi untuk menyelesaikan studi di Program Studi Magister Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta. Penyelesaian dan keberhasilan penyusunan Tesis ini dipengaruhi oleh berbagai pihak yang telah memberikan kontribusi positif selama penelitian maupun proses menulis. Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan Rahmat-Nya, nikmat sehat, waktu pendiaman luang dan kesempatan untuk melanjutkan studi ke jenjang Magister di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia di Yogyakarta sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis ini dengan baik.
2. Keluargaku yang selalu menjadi penyemangat buat aku yaitu Papa dan Mama yang selalu mensupport dalam segala hal, mendo'a kan, memberi masukan setiap proses, mendorong untuk cepat menyelesaikan studi serta menjadi support system dan saudara-saudaraku yaitu kakak Anita, adik Sartika, Rahmat dan Ramdhani Sirajuddin. Papa tua Fauji, papa tua Yusra yang senantiasa memberikan do'a dan dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan baik dan lancar.
3. Drs Allwar selaku ketua Program Studi Magister Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia.
4. Prof Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D selaku dosen pembimbing 1 dan Dr. Nahar Cahyandaru, S.Si., M.A selaku dosen pembimbing 2 yang banyak

memberikan saran sehingga penulisan Tesis ini dapat tersusun dengan baik Sahabat saya Putri Fitri yang selalu ada setiap susah maupun senang serta teman-teman yang memberi dukungan, semangat serta do'a kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan Tesis ini.

5. Partner penelitian Meike Muwandari dan Lutfiyah yang selalu saling mensupport dan saling menyemangati satu sama lain saat penelitian berlangsung dan juga rekan everything saya Sri Umayah yang sudah bersahabat sejak studi di S1.

Penulis menyadari bahwa Tesis ini masih jauh dari kesempurnaan dan memerlukan koreksi dari pihak yang terkait. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan Tesis ini sangat penulis harapkan dari semua pihak terkait. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan bimbingan dan petunjuk kepada kita semua, Aamiin.

***Wassalamu'alaikum Wr. Wb.***

Yogyakarta, 17 April 2022



Melisa I. Sirajuddin

## DAFTAR ISI

SURAT PERNYATAAN.....	i
HALAMAN PENGAJUAN PENDADARAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN TESIS.....	iii
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL .....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Peneliti.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN PERUMUSAN HIPOTESIS.....	5
II.1 Kajian Peneliti Terdahulu.....	5
II.1.1 Ekstraksi minyak atsiri.....	5
II.1.2 Minyak Atsiri biji pala sebagai antimikroba.....	6
II.1.3 Sintesis AgNPs menggunakan Ekstrak Tanaman.....	7
II.1.4 Sintesis AgNPs menggunakan Minyak Atsiri.....	10
II.2 Landasan Teori/Kerangka Teori.....	6
II.2.1 Minyak Biji Pala.....	6
2.II.2 Lumut Kerak (Lichen).....	15
2.II.2.1 Siklus Hidup Lichen.....	16
2.II.2.3 Jamur Pada Batuan.....	17
II.2.3 Agen penstabil nanopartikel.....	127
II.2.3.1 Poly Etylene Glikol (PEG).....	127
II.2.3.2 Surfaktan Tween 80.....	28
2.II.7.1 (Gas Chromatography-Mass Spectroscopy) GC-MS.....	29
2.II.7.1.2 Fragmentasi.....	31
II.2.7.2. Spektrofotometri UV-VIS.....	31
II.2.7.3 Spektroskopi (FTIR).....	32

2.II.7.4 (Particle Size Analyzer) PSA.....	34
II.2.7.5 SEM-EDX.....	35
II.2.8 Penentuan Aktivitas Antimikroba.....	37
1. Metode Difusi.....	37
a. Metode difusi cakram agar .....	37
b. Metode gradient antimikroba (E-test) .....	38
2. Metode Dilusi.....	38
a. Metode dilusi cair (broth) .....	38
b. Metode dilusi agar.....	39
II.3 Hipotesis.....	39
<b>BAB III.METODELOGI PENELITIAN .....</b>	<b>40</b>
III.1 Alat dan Bahan.....	40
III.2 Sintesis Minyak Biji Pala-Nanopartikel Perak (EO-AgNPs).....	40
III.2.1 Pengaruh Waktu penyimpanan .....	41
III.2.2 Pengaruh Variasi Berat Perak Nitrat (AgNO <sub>3</sub> ) .....	41
III.2.3 Pengaruh Penambahan Tween 80 Terhadap Stabilitas AgNPs.....	41
III.3 Karakterisasi Sintesis Nanopartikel Perak .....	41
III.4 Aplikasi EO-AgNPs Skala Lapangan .....	41
III.5 Aplikasi EO-AgNPs Skala Laboratorium .....	42
III.5.1 Sterilisasi Alat .....	42
III.5.2 Pembuatan Medium Agar .....	42
III.5.3 Sampling Lichen .....	42
III.5.5 Uji Efektivitas Larutan EO-AgNPs terhadap Lichen.....	42
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>43</b>
IV.1 Parameter Mutu Minyak Biji Pala .....	43
IV.2 Sintesis EO-AgNPs menggunakan minyak biji pala.....	47
IV.2.1 Variasi waktu penyimpanan terhadap kestabilan EO-AgNPs.....	48
IV.2.2 Variasi konsentrasi AgNO <sub>3</sub> terhadap pembentukan EO-AgNPs .....	51
IV.3 Efek penambahan tween 80 terhadap pembentukan EO-AgNPs .....	58
IV.3.1 Perbandingan surfaktan tween 80 dan polietilen glikol 400 .....	58
IV.3.2 Efek penambahan Tween 80 terhadap stabilitas EO-AgNPs.....	65
IV.4. Aplikasi Nanopartikel perak sebagai Anti-Lichen.....	74

V.4.1 Uji Aktivitas Anti-Lichen secara skala Lab.....	78
V.1 KESIMPULAN.....	82
V.2 SARAN.....,	82
DAFTAR PUSTAKA.....	83
DAFTAR LAMPIRAN.....	93

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Biji pala .....	11
Gambar 2. Hasil teknik destilasi .....	12
Gambar 3. Struktur senyawa utama minyak pala.....	16
Gambar 4. Siklus Hidup Lichen.....	17
Gambar 5. Pengamatan Visual Liken.....	18
Gambar 6. Struktur PEG .....	19
Gambar 7. Struktur Tween.....	20
Gambar 8. Mekanisme Reaksi pembentukan AgNPs .....	22
Gambar 9. Metode sintesis AgNPs .....	24
Gambar 10. Aplikasi AgNPs.....	27
Gambar 11. Skema Kerja GC-MS .....	29
Gambar 12. Skema Kerja FTIR .....	33
Gambar 13. Skema kerja SEM.....	36
Gambar 14. Skema Kerja EDX.....	37
Gambar 15. Hasil kromatogram minyak biji pala.....	51
Gambar 16. Struktur senyawa kimia dalam minyak pala.....	53
Gambar 17. Sintesis EO-AgNPs minyak biji pala .....	55
Gambar 1. Biji pala .....	11
Gambar 2. Hasil teknik destilasi .....	12
Gambar 3. Struktur senyawa utama minyak pala.....	16
Gambar 4. Siklus Hidup Lichen.....	17
Gambar 5. Pengamatan Visual Liken.....	18

Gambar 6. Struktur PEG .....	19
Gambar 7. Struktur Tween.....	20
Gambar 8. Mekanisme Reaksi pembentukan AgNPs .....	22
Gambar 9. Metode sintesis AgNPs .....	24
Gambar 10. Aplikasi AgNPs.....	27
Gambar 11. Skema Kerja GC-MS .....	29
Gambar 12. Skema Kerja FTIR .....	33
Gambar 13. Skema kerja SEM.....	36
Gambar 14. Skema Kerja EDX.....	37
Gambar 15. Hasil kromatogram minyak biji pala.....	51
Gambar 16. Struktur senyawa kimia dalam minyak pala.....	53
Gambar 17. Sintesis EO-AgNPs minyak biji pala .....	55
Gambar 18. Pengamatan visual EO-AgNPs variasi waktu pendiaman.....	60
Gambar 19. Spektra UV-VIS waktu pendiaman.....	61
Gambar 20. Pengamatan visual variasi konsentrasi.....	63
Gambar 21. Spektra UV-VIS variasi konsentrasi .....	64
Gambar 22. Prediksi mekanisme reaksi EO-AgNPs.....	65
Gambar 23. Spektra FTIR variasi konsentrasi .....	66
Gambar 24. Distribusi ukuran partikel.....	67
Gambar 25. Morfologi SEM EO-AgNPs.....	68
Gambar 26. Spektra EDX dan unsur EO-AgNPs.....	69
Gambar 27. Pengamatan visual Tween dan PEG.....	70
Gambar 28. Spektra UV-VIS penambahan tween dan PEG .....	70

Gambar 29. Spektra UV-VIS penambahan tween dan PEG .....	71
Gambar 30. Analisis ukuran partikel Tween dan PEG .....	72
Gambar 31. Morfologi permukaan Tween dan PEG .....	74
Gambar 32. Hasil EDX Tween .....	75
Gambar 33. Hasil EDX PEG.....	75
Gambar 34. Pengamatan visual pengaruh Tween 80 .....	77
Gambar 35. Spektra UV-VIS penambahan Tween .....	78
Gambar 36. . Spektra FTIR penambahan Tween 80.....	80
Gambar 37. Mekanisme reaksi Tween 80 dan Ag+ .....	83
Gambar 38. Analisis ukuran partikel menggunakan PSA.....	84
Gambar 39. Morfologi EO-AgNPs Tween 80 .....	86
Gambar 40. Hasil EDX EO-AgNPs penambahan Tween 80.....	87
Gambar 41. Ilustrasi pengujian <i>Lichen</i> .....	88
Gambar 42. Uji aktivitas Anti-Lichen .....	89
Gambar 43. Grafik diameter zona hambat EO-AgNPs.....	90
Gambar 44. Hasil pengamatan uji anti- <i>Lichen</i> .....	92
Gambar 45. Hasil pengamatan handy microscop.....	93

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Metode ekstraksi minyak biji pala.....	6
Tabel 2. Sintesis nanopartikel logam menggunakan tanaman.....	7
Tabel 3. Senyawa utaman campuran minya pala.....	15
Tabel 4. Sifat fisik minyak biji pala.....	50
Tabel 5. Hasil GC-MS minyak biji pala .....	52
Tabel 6. Serapan maksimum lama penyimpanan .....	55
Tabel 7. Puncak serapan AgNPs variasi konsentrasi.....	57
Tabel 8. Interpretasi spektrum FTIR variasi konsentrasi.....	61
Tabel 9. Interpretasi spektrum FTIR Tween dan PEG .....	62
Tabel 10. Distribusi ukuran partikel Tween dan PEG.....	66
Tabel 11. Puncak serapan maksimum Tween.....	67
Tabel 12. Puncak serapan AgNPs variasi konsentrasi.....	71
Tabel 13. Bilangan gelombang EO-AgNPs Tween 80.....	73
Tabel 14. Distribusi Ukuran partikel Tween 80.....	76
Tabel 15. Lebar zona bening EO-AgNPs... ..	90

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Indonesia mempunyai banyak benda cagar budaya yang tidak ternilai harganya. seperti candi Prambanan, candi Borobudur, batik, dan wayang yang terbuat dari batu, kayu, kertas, dan kain. Cagar budaya harus di lindungi dari kepunahan dan kerusakan akibat proses alam seperti hujan asam, serangan serangga, jamur, lumut dan mikroba. Mikroba tersebut mudah berkembang pada batu pasir, granit, batu kapur, dan gypsum (Burford et al., 2003). Candi Borobudur sebagian besar terdiri dari batuan andesit yang memiliki ciri banyak berpori. Pori yang banyak menyebabkan nilai porositas yang bervariasi sehingga memungkinkan untuk tertampungnya air. Penampungan air pada pori-pori batuan menyebabkan terbentuknya lingkungan yang mendukung untuk pertumbuhan mikroorganisme dan menyebabkan terjadinya biodeteriorasi. Agen biodeteriorasi antara lain adalah jamur, alga, *lichen*, lumut, dan bakteri (Kanaori et al., 2000). Banyak faktor yang menyebabkan kerusakan batuan seperti kimia, fisika, dan biologis. Pertumbuhan mikroba pada batuan tergantung faktor lingkungan seperti ketersediaan air, pH, iklim, sumber nutrisi, komposisi batuan, porositas, dan permeabilitas batuan (Riyanto et al., 2016).

*Lichen* (lumut kerak) mampu bertahan hidup dengan cuaca yang panas maupun dingin dan dapat hidup di berbagai tempat seperti batuan maupun kayu. *Lichen* sangat peka terhadap perubahan lingkungan dan mampu beradaptasi atau bertahan dengan lingkungan yang memiliki suhu tinggi, kekeringan dan curah hujan yang tinggi. Pertumbuhan lumut mempengaruhi kerusakan batu dengan terbentuknya rhizoid lumut pada batu yang dapat menembus hingga 2-3 mm ke dalam batu (Purawijaya & Priyantika, 2013) Lumut dapat mengambil partikel pasir sebanyak 0,3x dari biomasnya per cm<sup>2</sup> pada dinding batuan. Selain itu jika kandungan air pada lumut tinggi maka kelembaban batuan menjadi tinggi menyebabkan degradasi karena terjadinya reaksi hidrasi pada komponen mineral penyusun batuan (Gunawan et al., 2007).

Penggunaan bahan alami dikembangkan untuk mencegah adanya efek samping dan sebagai alternatif untuk mengurangi penggunaan bahan-bahan sintesis seperti organoposfat, DDT, senyawa klorobenzena, CCA (*Chromated Copper Arsenat*) dan AC 322 yang mengandung ammonium bikarbonat. Bahan-bahan tersebut merupakan bahan berbahaya dan beracun yang menyebabkan bahaya bagi manusia yang melakukan konservasi, pengunjung, dan lingkungan sekitar benda cagar budaya. Bahan-bahan tersebut dapat menyebabkan kanker karena bersifat karsinogenik dan mutagenik. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk melindungi bangunan yang bersejarah.

Bahan alami dari tanaman berpotensi untuk mengendalikan mikroorganisme karena kandungan zat aktif didalamnya (S. Ibrahim, 2020). Diantaranya bahan alami yang memiliki zat aktif adalah minyak atsiri. Minyak atsiri merupakan senyawa volatile dengan bau yang khas (Bakkali et al., 2008). Sebagian besar mengandung antioksidan dan antimikroba alami (Somesh Mehra, Rupali Srivastave, Swati Shula, Jose Mathew, 2015). Registrasi pestisida berbahan dasar minyak atsiri telah lolos dari EPA (*Environtmental Protection Agency*) dan dinyatakan aman dari GRAS sehingga ramah lingkungan dan aman untuk manusia.

Salah satu jenis minyak atsiri yang digunakan adalah minyak atsiri biji pala. Kandungan berbagai macam senyawa aktif dalam minyak atsiri biji pala diantaranya karotenoid, fenol, vitamin, flavonoid dan mempunyai komponene utama seperti sabinene, myristicin, alpha terpineol,  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, methyl eugenol dan limonene (Shekarforoush *et al.*, 2007). Senyawa-senyawa tersebut dapat mengganggu pertumbuhan jamur (Nurmansyah, 2010). minyak pala juga berpotensi untuk mengurangi ion logam, mengais radikal, anti mikroba, anti bakteri, anti jamur dan anti inflamasi (Mousavi et al., 2019a). Dan memiliki sifat insektisida dan antioksidan serta anti jamur (Valente et al., 2014).

Meskipun bersifat aman, kelemahan dari penggunaan minyak atsiri adalah ketidakstabilan terhadap udara, cahaya dan suhu sehingga dapat menyebabkan penguapan atau volatil dan degradasi senyawa aktif. Karena sifat minyak atsiri yang mudah megaup dan tidak stabil memerlukan penggabungan bahan dari tanaman ke dalam formulasi yang berbasis nanoteknologi, seperti nanopartikel

untuk meningkatkan efektivitas, stabilitas dan mencegah penguapan senyawa aktif dalam minyak atsiri.

Nanoteknologi merupakan salah satu bidang penelitian yang saat ini dikembangkan dengan teknologi berbasis nano. Nanomaterial mempunyai ukuran yang khas dibandingkan material berukuran mikrometer karena luas permukaan yang lebih besar (Iglesias-Silva et al., 2007). Salah satu nanomaterial yang sedang berkembang adalah nanopartikel logam. Nanopartikel logam memiliki luas permukaan dan atom permukaan spesifik yang tinggi, karena karakteristik fisikokimianya yang luar biasa, termasuk sifat optik, katalitik, elektronik, magnet, dan antimikroba. (Verma & Mehata, 2016). Penelitian sintesis nanopartikel logam merupakan topik penelitian penting dalam ilmu material karena potensi dalam berbagai aplikasinya. Sintesis nanopartikel logam dilakukan untuk meningkatkan sifat-sifat berdasarkan bentuk fisik diantaranya ukuran, distribusi dan morfologi (Yadav et al., 2018).

Penelitian yang dilakukan tentang pembuatan formulasi biopestisida berbasis minyak atsiri biji pala dalam skala nanopartikel logam menggunakan logam perak (Ag). Nanopartikel perak merupakan material yang cenderung sedang banyak diteliti karena mempunyai cakupan bidang aplikasi yang luas salah satunya yang sangat berkembang adalah pada bidang antimikroba (Kim et al., 2007). Perak mempunyai toksisitas yang tinggi terhadap mikroorganisme karena keterikatannya pada permukaan membran sel mengganggu respirasi dan permeabilitas sel mikroba (Iravani, 2011).

Berdasarkan studi literatur belum dilakukan sintesis nanopartikel perak menggunakan minyak atsiri biji pala sebagai penghambat *lichen* pada batuan. Potensi minyak atsiri sangat besar di berbagai bidang kesehatan, ilmu material, kimia, biologi dan masih banyak potensi pada bidang lainnya. Hal ini mendorong penulis untuk memanfaatkan potensi dari minyak atsiri sebagai bahan alami yang memiliki efektivitas tinggi sebagai anti bakteri maupun jamur (Isman, 2000). Nanopartikel akan mencegah volatilitas minyak atsiri biji pala, sehingga efektif dan tidak meninggalkan bekas pada benda cagar budaya. Nanopartikel yang telah diaplikasikan akan berdifusi kedalam media agar dan merusak dinding sel jamur

sehingga menyebabkan terjadinya kematian. Beberapa metode yang dapat digunakan dalam memproduksi nanopartikel perak diantaranya reduksi kimia, sonokimia radiasi ultrasonik, dan sintesis solvotermal, (Lembang et al., 2014).

Dalam penelitian ini dipilih metode reduksi kimia yang berbasis *green synthesis* karena menggunakan bahan alami dan memiliki langkah kerja yang mudah, cepat, murah dan menggunakan suhu rendah. Menggunakan reduktor bahan alami minyak atsiri biji pala dan prekursor  $\text{AgNO}_3$  dalam pembuatan biopestida nanopartikel perak dan aplikasinya sebagai penghambat *lichen* pada batuan candi.

## **I.2 Rumusan Masalah**

1. Bagaimana hasil karakterisasi minyak atsiri biji pala?
2. Bagaimana perubahan warna yang terjadi dari sintesis nanopartikel perak?
3. Bagaimana hasil pembentukan dan stabilitas EO-AgNPs terhadap waktu penyimpanan dan konsentrasi perak nitrat ( $\text{AgNO}_3$ )?
4. Bagaimana pengaruh penambahan surfaktan dan ko-surfaktan terhadap pembentukan sintesis EO-AgNPs?
5. Bagaimana pengaruh penambahan surfaktan tween 80 dan konsentrasi perak nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) terhadap ukuran partikel?
6. Bagaimana efektivitas EO-AgNPs dalam menghambat pertumbuhan lichen pada batuan?

## **I.3 Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui hasil katakterisasi minyak atsiri biji pala
2. Mengetahui perubahan warna yang terjadi dari sintesis nanopartikel perak
3. Mengetahui hasil pembentukan EO-AgNPs terhadap waktu penyimpanan dan pengaruh waktu pendiaman dan konsentrasi perak nitrat ( $\text{AgNO}_3$ )
4. Mengetahui pengaruh penambahan surfaktan dan ko-surfaktan terhadap pemebntukan sintesis EO-AgNPs
5. Mengetahui pengaruh penambahan surfaktan tween 80 dan konsentrasi perak nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) terhadap ukuran partikel
6. Mengetahui efektivitas EO-AgNPs dalam menghambat pertumbuhan lichen pada batuan?

#### **I.4 Manfaat Penelitian**

1. Mengetahui system kerja dari objek-objek yang menjadi sampel penelitian.
2. Mampu menambah wawasan dan ilmu pengetahuan bagi para peneliti kampus dan instansi maupun bagi masyarakat umum.
3. Mendorong pengembangan aplikasi nanopartikel perak berbasis biopestisida minyak atsiri sebagai agen antimikroba
4. Memberikan informasi terkait sintesis nanopartikel dari minyak atsiri biji pala sebagai penghambat pertumbuhan lichen pada konservasi benda cagar budaya
5. Mendapatkan formulasi nanopartikel perak untuk diaplikasikan pada batuan candi.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA DAN PERUMUSAN HIPOTESIS**

#### **II.1 Kajian Peneliti Terdahulu**

##### **II.1.1 Ekstraksi minyak atsiri**

Minyak atsiri berasal dari tumbuhan yang dikenal sebagai minyak aromatik yaitu senyawa volatile yang diproduksi secara alamiah dalam tumbuhan sebagai kebutuhan nutrisi dan metabolit sekunder dengan ciri khas berbau (Bakkali et al., 2008). Minyak atsiri diekstrak dari tumbuhan aromatik sebagai metabolit sekunder, yang mudah menguap, ditandai dengan bau khas minyak atsiri. Minyak atsiri dihasilkan dari berbagai macam jenis tanaman yang diekstrak dari akar, batang, bunga, buah maupun biji (Bakkali et al., 2008). Bahan Minyak atsiri mengandung antimikroba alami dan antioksidan alami biasanya digunakan dalam wewangian, aromaterapi, kosmetik, obat, produk pembersih rumah tangga dan sebagai bumbu makanan maupun minuman (Rassem et al., 2016). Zat alami tumbuhan memiliki potensi penghambat serangga yang digunakan sebagai bahan alternatif alami. Zat aktif tanaman tidak hanya bertindak sebagai racun untuk penghambat serangga tetapi juga bersifat penolak dan patogen (Kerkeni et al., 2016).

Destilasi merupakan proses pemisahan komponen-komponen suatu campuran yang terdiri atas dua cairan atau lebih berdasarkan perbedaan tekanan uap atau berdasarkan perbedaan titik didih komponen-komponen senyawa tersebut (Geankoplis, 1997). Kelebihan metode destilasi uap yaitu minyak atsiri yang dihasilkan bebas dari pelarut organik dan dapat digunakan secara langsung tanpa proses pemisahan. Isolasi minyak atsiri dilakukan dengan tiga metode destilasi, yaitu destilasi air (*water distillation*), destilasi air dan uap, dan destilasi uap.

Destilasi air atau hidrodistilasi yaitu, bahan yang didestilasi berkontak secara langsung dengan air mendidih. jika uap yang digunakan adalah uap basah, jenuh dan tidak terlalu panas, proses ini disebut dengan destilasi air dan uap (*water and steam distillation*), sedangkan destilasi uap (*steam distillation*) adalah bahan tanaman dimasukkan ke dalam ketel tanpa air, dan uap dari ketel dipaksa masuk. Diantara semua metode, metode destilasi uap telah banyak digunakan terutama untuk produksi skala komersial (Cassel et al., 2006). Augusta (2000), mengisolasi minyak

atsiri dari biji pala segar dengan cara destilasi uap diperoleh minyak sebanyak 2,16% dengan kadar miristisin 2,50%. Sulaswaty (2003), mengisolasi minyak pala dengan cara destilasi fraksinasi. Diperoleh minyak pala sebanyak 12,08% dengan kadar miristisin 12,55%. Wahyuni dkk (2006), mengisolasi minyak pala dari biji pala segar melalui destilasi uap. Diperoleh minyak sebanyak 2,57%. Biji pala memiliki sifat yang sangat keras sehingga metode destilasi uap sangat cocok untuk isolasi minyak atsiri biji pala.

**Tabel 1. Metode ekstraksi dari minyak atsiri biji pala**

<b>Tanaman</b>	<b>Metode Ekstraksi</b>	<b>Referensi</b>
<i>Nutmeg seeds</i>	Destilasi uap	(Riyanto et al., 2021)
<i>(Myristica fragrans</i> <i>Houtt.)</i>	Destilasi uap	(Chatterjee et al., 2015)
<i>Nutmeg (Myristica</i> <i>fragrans)</i>	Destilasi uap	(Essam et al., 2012)
<i>Nutmeg (myristica</i> <i>fragrans)</i>	Destilasi uap	(Sudradjat et al., 2018)
<i>Myristicin from Nutmeg</i> <i>Oil</i>	Hidro destilasi	(Marzuki et al., 2014)
<i>Nutmeg Oil</i> <i>nutmeg seeds</i> <i>(Myristica fragrans</i> <i>Houtt.)</i>	Destilasi uap	(Asfiah, 2020)

### II.1.2 Minyak atsiri biji pala sebagai antimikroba

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sejumlah minyak atsiri mempunyai aktivitas terhadap anti jamur. Aktivitas anti jamur yang dimiliki oleh minyak atsiri berhubungan dengan senyawa monoterpenik fenol khususnya timol, karvakrol dan eugenol (Isman, 2000). Aktivitas biologi terhadap serangga dapat bersifat menolak (*repellent*), menarik (*attractant*), racun kontak (*toxic*), racun pernapasan (*fumigant*), mengurangi nafsu makan (*antifeedant*), menghambat peletakan telur (*oviposition deterrent*), menghambat pertumbuhan, menurunkan fertilitas serta sebagai anti serangga sector. Minyak atsiri juga digunakan sebagai biopestisida alami yang ramah lingkungan dan potensinya dalam pertanian khususnya sebagai penghambat hama serangga. mengurangi dampak negatif dari insektisida kimiawi terhadap lingkungan, tanaman, dan manusia (Kim et al., 2007).

Minyak atsiri digunakan untuk aplikasi bakterisida, virusida, fungsida, antiparasit, insektisida, obat dan makanan. Sejumlah minyak atsiri juga dilaporkan dapat menghambat infeksi dari virus (Reichling & Suschke, 2009). (Mousavi et al., 2019a) melaporkan minyak atsiri pala sebagai antimikroba dan anti jamur dan ragi. Bahkan dengan berat yang rendah, dan memiliki daya hambat yang tinggi terhadap bakteri *e-coli*. (Shaaban et al., 2012) melaporkan bioaktivitas dari minyak atsiri telah dikonfirmasi oleh beberapa penelitian sebagai antibakteri, antivirus, anti-inflamasi, antijamur, antimitogenik, antikarsinogenik, dan antioksidan serta aktivitas lain-lain. Dengan kandungan senyawa fenol dan flavonoid yang tinggi (Oo et al., 2021).

Aktivitas antioksidan dan antimikroba dari buah pala seperti di laporkan dari hasil penelitian (Gupta et al., 2013) kandungan senyawa dari minyak pala seperti  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, miristisin, 1,8-cineole, carvacrol, terpinen-4-ol, eugenol dan isoeugenol dapat mencegah atau memperlambat perkembangan penyakit infeksi oleh mikroorganisme patogen oportunistik. Minyak atsiri pala juga mampu menekan oksidasi lipid (Gupta et al., 2013).

### **II.1.3 Sintesis Nanopartikel Perak menggunakan Ekstrak Tanaman**

Nanopartikel logam banyak menarik perhatian karena aplikasinya yang luas antara lain di bidang optik, elektronik, biologi, katalis dan kedokteran (Wahyudi et al., 2011). Nanopartikel perak merupakan salah satu nanopartikel logam yang paling banyak disintesis. Penggunaan ekstrak tanaman untuk sintesis nanopartikel logam atau dikenal sebagai biosintesis masih dikembangkan seiring kebutuhan dan perkembangan aplikasinya dalam berbagai bidang. Nanopartikel perak dapat dihasilkan dari berbagai variasi metode meliputi fotokimia, sonokimia, radiasi ultrasonik, sintesis solvotermal, *green synthesis*, poliol dan reduksi (Guzman et al. 2009). Metode bio-reduksi atau disebut juga metode sintesis hijau paling banyak digunakan karena aman, hemat biaya dan memuat konsep dasar yang mengarah pada kimia berkelanjutan dan ramah lingkungan (Fatimah, 2017). Prinsip metode ini menggunakan bahan alami yang aman dan tidak toksik. Sintesis nanopartikel logam banyak dikembangkan ke arah penggunaan bahan alami yang ramah lingkungan dan proses-proses yang efisien secara energi.

Penggunaan ekstrak tanaman sebagai reduktor nanopartikel banyak dipilih. Beberapa penelitian telah melaporkan hasil sintesis nanopartikel perak menggunakan ekstrak tanaman dengan prekursor perak nitrat disajikan pada Table 2. Sintesis nanopartikel perak menggunakan bahan alami seperti ekstrak tanaman dengan metode *green synthesis* lebih menguntungkan karena metode ini memiliki beberapa kelebihan antara lain tidak membutuhkan suhu tinggi, murah, kinerja kerja lebih cepat dan ramah lingkungan. Pada umumnya ekstrak tanaman berperan menyumbangkan sifat reduksi dari kandungan metabolit di dalam tanaman baik bagian akar, batang, daun, buah maupun bunga tanaman. Kemampuan reduksi ekstrak tanaman disebabkan oleh adanya gugus-gugus fungsi aktif dari tanaman seperti alkenil (C C), amida (C N), fenolik dan alcohol (O-H), amina (N H) dan karboksilat (COO) yang berasal dari metabolit sekunder tanaman sebagaimana dari beberapa senyawa teridentifikasi seperti katekin, gingerol dan flavonoid (Fatimah, 2017).

Dilakukan penelitian oleh (Agen et al., 2013) tentang sintesis nanopartikel dengan prekursor perak nitrat hasil analisis terhadap spektra UV-Vis menunjukkan nanopartikel yang relatif stabil pada pengukuran panjang gelombang maksimum 417 hingga 418 nm dan Karakterisasi dengan TEM menunjukkan nanopartikel perak memiliki ukuran terkecil dengan kisaran 10,15–27,56 nm. Sintesis nanopartikel perak menggunakan ekstrak daun kemangi telah dilaporkan oleh (Prasetyaningtyas et al., 2020) Koloid nanopartikel perak yang disintesis dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan Panjang gelombang 400 nm dengan ukuran partikel 366 nm. Damayanti, 2021 melaporkan sintesis nanopartikel perak menggunakan metode *green synthesis*. Hasil karakterisasi menggunakan TEM diperoleh ukuran nanopartikel sebesar 11.46 nm dan diameter penghambatan *Staphylococcus aureus* yaitu sebesar 5.79 mm.

**Tabel 2. Sintesis nanopartikel logam menggunakan beberapa tanaman**

<b>Tanaman</b>	<b>Logam</b>	<b>Hasil</b>	<b>Referensi</b>
<i>Sambucus nigra</i> <i>L</i>	Ag	26 nm dan	(Moldovan et al., 2016)
<i>Myristica fragrans</i> (nutmeg)	Ag	Antara 7-20 nm	(Sharma et al., 2014)
<i>Malus domestica</i>	Ag	145 nm	(Umoren et al., 2014)
Red Citrus limon	Ag	8,27- 14,48 nm	Vankar and Shukla, 2012)
<i>Malus domestica</i>	Ag	10–45nm	(Vijayashree et al., 2014)
<i>Lantana camara</i>	Ag	33.8 nm	(Muthukumar, 2016)
<i>Pisonia grandis</i>	Ag	150 nm	Firdhouse et al., 2012)
<i>Ananas comosus</i>	Ag	12nm	Ahmad and Sharma, 2012)
<i>Abutilon indicum</i> (L.)	Ag	106 nm	(Alagersamy, 2016)
<i>Bergenia ciliata</i> extract.	Ag	35nm	(JL et al., 2017)
<i>Cinnamomum camphora</i>	Au	10-100	Dzimitrowicz et al., 2016)
<i>Mentha piperita</i>	Au	10-300	Jayaseelan et al., 2013)
<i>Abelmoschus esculentus</i>	Au	10-125	

Sintesis hijau dengan langkah kerja sederhana, cepat tidak beracun dan ramah lingkungan telah dilakukan oleh (Ahmed et al., 2016). Melaporkan nanopartikel perak menggunakan ekstrak daun *Azadirachta indica*. Hasil analisis spektrofotometer UV-Visible menunjukkan nilai absorbansi kisaran 436-446 nm. Nanopartikel perak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap mikroorganisme gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan gram negatif (*Escherichia coli*). (Masakke et al., 2015) melaporkan Sintesis nanopartikel perak menggunakan Ekstrak Metanol Daun Manggis (*Garcinia mangostana L.*).

Hasil analisis UV-Vis muncul puncak serapan pada panjang gelombang 395 – 515 nm. Karakteristik partikel-nano perak yang dihasilkan, dianalisis dengan menggunakan instrumen SEM-EDS, dan PSA. Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan waktu reaksi optimum adalah 60 menit, dengan partikel-nano yang dihasilkan berbentuk tidak seragam serta cenderung untuk beragregasi dengan distribusi ukuran partikel-nano antara 204,23 nm – 562,49 nm dan diameter rata-rata 339,44 nm.

#### **II.1.4 Sintesis nanopartikel perak menggunakan minyak atsiri**

Perak telah lama dikenal memiliki efek penghambatan terhadap banyak strain bakteri dan organisme mikro yang biasa ada dalam proses medis dan industri (Mostafa et al., 2010). Aplikasi nanopartikel perak dan perak yang paling banyak digunakan dan dikenal termasuk salep topikal dan krim yang mengandung perak untuk mencegah infeksi luka bakar dan luka (Murphy, 2008). Banyak upaya telah dilakukan untuk menggunakan nanopartikel perak sebagai agen anti-kanker dan semuanya terbukti positif (Vaidyanathan et al., 2009)

Nanopartikel logam memiliki luas permukaan spesifik yang tinggi dan fraksi atom permukaan yang tinggi. Karena karakteristik fisikokimia yang unik dari nanopartikel, termasuk aktivitas katalitik, sifat optik, sifat elektronik, sifat antibakteri, dan sifat magnetik, yang menarik. Nanopartikel dapat diklasifikasikan berdasarkan jenis materialnya menjadi nanopartikel logam, semikonduktor, polimer dan nanoformulation minyak esensial. Nanopartikel perak, emas, seng, kitosan, platinum, besi, tembaga, karbon nanotube dan sebagainya yang dikombinasikan dengan minyak atsiri untuk aktivitas antimikroba (Rai et al., 2017). Perak telah digunakan sebagai agen antimikroba selama berabad-abad, Perak terkenal memiliki efek penghambatan terhadap banyak strain bakteri dan mikroorganisme dalam proses medis dan industry (Sharma et al., 2014).

Penelitian yang dilakukan oleh (Sharma et al., 2014), melaporkan nanopartikel hasil biosintesis menggunakan minyak atsiri biji pala kestabilan nanopartikel perak hasil sintesis dianalisis menggunakan dikarakterisasi spektrofotometer UV-Vis puncak serapan pada Panjang gelombang 410 nm, biji pala dapat mereduksi ion perak menjadi nanopartikel perak dalam waktu 12 menit

waktu reaksi dan hasil karakterisasi TEM nanopartikel perak dalam kisaran ukuran 7-20 nm (Sharma et al., 2014).

Dalam penelitian (Mousavi et al., 2019b), peneliti memodifikasi nanopartikel  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-MgO}$  dengan minyak pala untuk pengembangan nanopartikel yang super magnetik. Hasil analisis nanopartikel  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-MgO}$  menunjukkan bahwa penambahan minyak pala dapat meningkatkan hasil sintesis nanopartikel magnetik dan meningkatkan magnetisasi saturasi dari 31,23 emu/g menjadi 72,29 emu/g dengan peningkatan magnetisasi sebesar 131,47%. Nanopartikel magnetik memiliki morfologi yang bulat dengan ukuran sangat kecil sekitar 10-15 nm.

Selain dengan logam, sintesis nanopartikel dapat dilakukan dengan non logam seperti polimer, yang dilaporkan oleh (Omar et al., 2017). Pada penelitian ini, dua minyak yang berbeda Geranium dan Bergamot diteliti menggunakan polietilen glikol (PEG) dan kitosan sebagai matriks/pelapis polimer. Karakterisasi fisikokimia PN menunjukkan PEG-PN memiliki ukuran <255 nm dan efisiensi enkapsulasi antara 68 dan 77% sedangkan kitosan-PN memiliki ukuran <535 nm dengan efisiensi enkapsulasi 22-38%. Penggunaan nanopartikel polimer yang mengandung minyak atsiri menjadi sumber ramah lingkungan

Sintesis nanopartikel perak menggunakan metode sintesis hijau dengan agen pereduksi *polyetilen glikol* yang dilaporkan oleh (Ahmad et al., 2011). Pembentukan nanopartikel perak dikonfirmasi dalam spektrum serapan UV-Vis, yang menunjukkan karakteristik pita SPR dari NP Ag dalam kisaran 415-430 nm. Hasil TEM menunjukkan bahwa NP Ag berbentuk bola dan diameter rata-rata partikel adalah 5,50, 6,45 dan 19,37 nm.

## II.2 Landasan Teori/Kerangka Teori

### II.2.1 Minyak atsiri biji pala

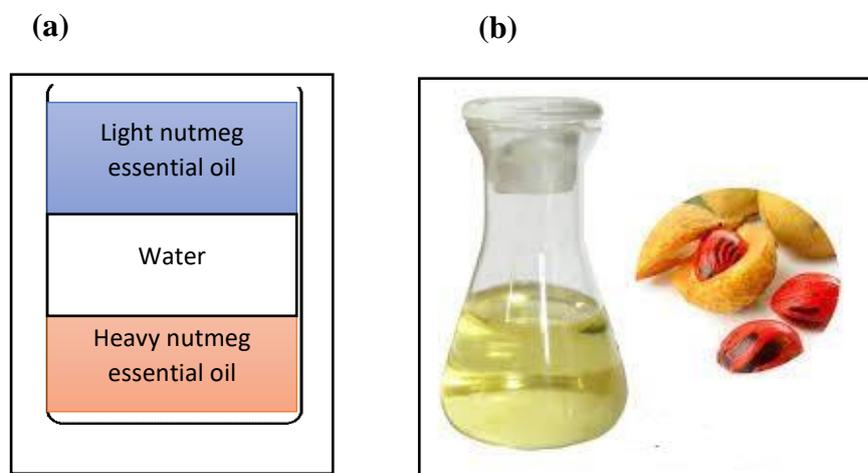
Tanaman pala termasuk dalam family *Myristicaceae* yang merupakan salah satu tanaman khas Indonesia. Tanaman ini dihasilkan dari kepulauan Maluku dan pulau-pulau sekitarnya. Pengolahan biji pala, minyak pala yang bernilai jual tinggi saat ini dan sedang dikembangkan untuk dijadikan produk yang digunakan di berbagai bidang. Selain itu biji pala juga digunakan sebagai bumbu dan penyedap makanan, dalam wewangian dan obat-obatan. Buah pala memiliki banyak khasiat biologis sebagai analgesik, antiseptik, antispasmodik, afrodisiak, astringen, karminatif, hemostatik, insektisida dan parasitisida. Pala tidak hanya digunakan dalam makanan tetapi juga sebagai bahan baku minyak atsiri (Duarte et al., 2011).



**Gambar 1. Biji Pala**

Myristicin ( $C_{11}H_{12}O_3$ ) adalah salah satu unsur terpenting dari minyak pala dan merupakan senyawa aromatik utama dari volatil minyak pala, yang berasal dari biji *myristica fragrans*. Myristicin bersifat beracun dan halusinogen pada pala dan bunga pala. (Duarte et al., 2011). Miristisin yang terkandung dalam minyak pala bersifat racun mudah terabsorpsi pada konstituen lain dalam minyak pala dan berbau. Manfaat miristisin dapat digunakan sebagai obat bius dan campuran obat-obat tertentu dalam bidang farmasi. Zat ini merupakan agen yang bersifat halusinogen dan toksik yang jika di konsumsi secara berlebihan dapat menyebabkan terjadinya keracunan. Namun, miristisin juga bermanfaat pada pencegahan tumor dan dapat digunakan sebagai obat bius ikan ekspor sehingga tetap dalam keadaan segar selama transportasi (Ketaren et al., 2007).

Minyak atsiri pala telah memenuhi SNI No. 06-2388-2006 merupakan campuran minyak atsiri ringan dan berat. Gambar 4 menunjukkan kondisi separator dan minyak atsiri pala. Minyak atsiri pala termasuk campuran minyak atsiri ringan dan berat, ditunjukkan pada Tabel 1. Menurut Sudrajat et al., kandungan miristisin pada produk bawah (residu) sedikit meningkat dibandingkan dengan kandungan miristisin awal pada minyak pala sebagai bahan baku. Hal ini disebabkan pada saat destilasi masih banyak komponen lain yang senyawa volatilnya lebih banyak diuapkan ke produk destilat.

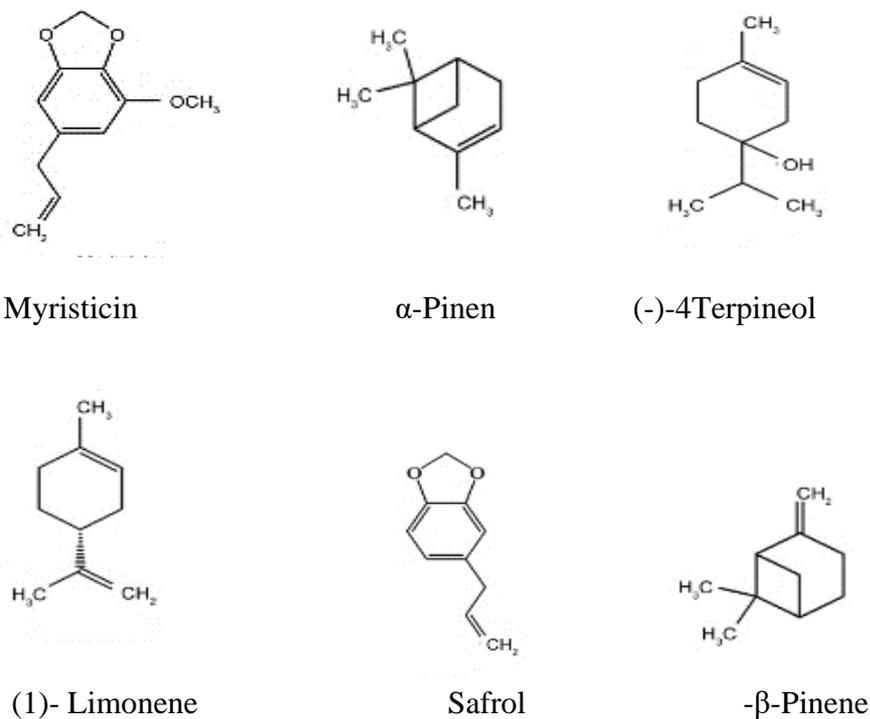


**Gambar 2. a) Hasil teknik destilasi uap pada pemisah dan b) campuran minyak atsiri biji pala ringan dan berat**

Minyak atsiri pala merupakan kombinasi dari minyak ringan dan minyak berat. Minyak berat dengan berat jenis di atas satu sehingga terletak di separator di atas air, minyak ringan berada di bawah air. Minyak berat dapat diproduksi pada tekanan tinggi, sehingga distilasi dengan uap sangat cocok. Minyak atsiri pala adalah produk utama yang dihasilkan dari tanaman pala dengan teknik destilasi. Minyak pala paling sering diekstraksi dari pala muda menggunakan destilasi uap. Minyak atsiri ini mengandung senyawa utama miristisin dan beberapa senyawa lain, seperti alpha-pinene, sabinene, gamma-terpinene, limonene. Minyak atsiri pala digunakan sebagai bahan baku untuk industri farmasi dan obat-obatan.

Kualitas minyak atsiri pala ditentukan oleh kadar miristisin, yaitu minimal 10%. Faktor penentu mutu minyak pala ditentukan oleh kandungan miristisin karena memberikan aroma yang khas pada minyak pala. Minyak atsiri pala berbeda

dengan minyak atsiri lain yang memiliki komponen kimia dengan berat jenis di atas dan di bawah 1. Minyak atsiri dengan berat jenis di bawah satu disebut minyak ringan, dan berat jenis di atas satu di sebut minyak berat. Minyak berat dalam minyak atsiri pala adalah miristicin dan safrol. and safrole. Minyak ringan seperti  $\alpha$ -Pinene, (-)-4Terpineol, (-)- $\beta$ -Pinene,  $\gamma$ -Terpinene, (-)-Limonene,  $\beta$ -Phellandrene, (+)-2-Carene and  $\alpha$ -Terpinolene.



**Gambar 3. Struktur senyawa utama dalam minyak atsiri pala**

### 2.II.2 Lumut Kerak (*Lichen*)

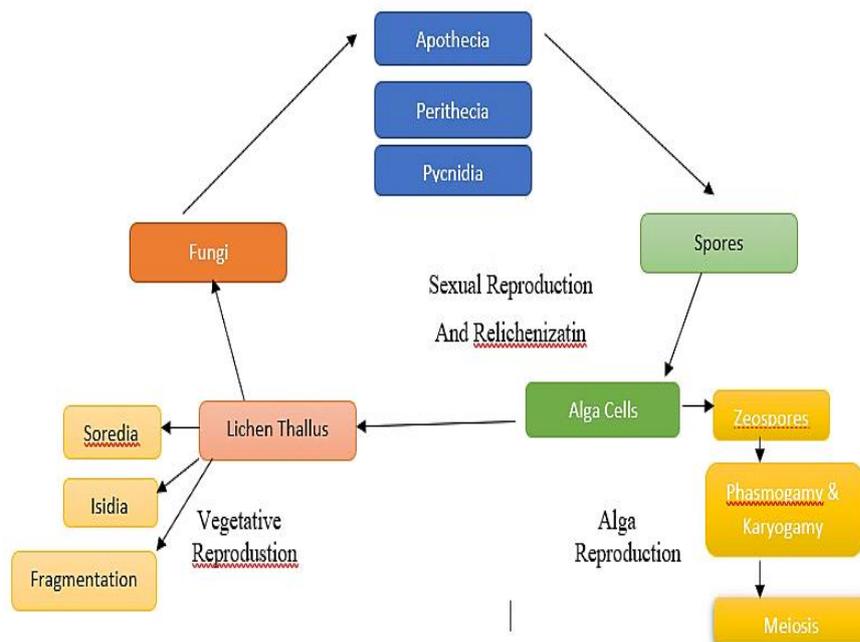
*Lichen* adalah organisme berupa tumbuhan yang menutupi sekitar 8 % permukaan bumi. *Lichen* biasanya di jumpai pada pohon, bebatuan dan tanah. *Lichen* juga dapat menempel pada berkas property buatan manusia seperti beton, besi tua mobil yang sudah tidak di gunakan dan bangku-bangku taman ( Guide, 2007.) *Lichen* berasal dari dua organisme berbeda yang saling bersimbiosis. Organisme tersebut yaitu fungi dan organisme fotosintetik, yaitu alga sehingga secara morfologi dan fisiologi merupakan satu kesatuan dimana jamur memperoleh makanan dari alga melalui proses fotosintesis dan jamur menyediakan pertukaran

air, gas dan mineral. *Lichen* merupakan tumbuhan tingkat rendah yang memiliki alat kelamin tersembunyi sehingga *lichen* termasuk kelompok *Cryptogamae*. Dan termasuk dalam Divisi *Thallophyta*. *Lichen* termasuk tumbuhan yang memiliki ciri utama berbentuk thalus, disebut thalus karena tubuh tumbuhan tersebut belum dapat dibedakan dalam 3 bagian utamanya yaitu akar, batang, dan daun (Tjitrosoepomo, 2014).

Penyusun *lichen* tersusun atas jamur dan alga, pada alga yang ikut menyusun tubuh lichen disebut gonidium, dapat bersel tunggal atau berupa koloni. Hubungan simbiosis mutualistik antara *lichen*, alga dan jamur membentuk morfologi yang berbeda dengan spesies lain pada komponennya. Alga memiliki klorofil untuk melakukan fotosintesis dan menghasilkan karbohidrat sedangkan jamur memberikan garam mineral dan air dari lingkungan kepada alga (Campbell, 2012). *Lichen* biasanya ditemukan pada pohon, kulit kayu dan batuan. *Lichen* mampu bertahan hidup dengan cuaca yang terik hal ini dikarenakan *lichen* menghasilkan lebih dari 500 senyawa biokimia senyawa tersebut berfungsi untuk mengontrol sinar matahari, membunuh mikroba dan mengurangi kompetisi dengan tumbuhan lain (Muzayyinah, 2005). Ciri-ciri fungi yang membentuk *lichen* yaitu kebanyakan tidak berhubungan dan memiliki bentuk yang berbeda dengan *lichen* termasuk di dalamnya adalah jamur, khususnya jamur piala atau *Ascomycetes* yang tumbuh sekitar 98% hampir seluruh keluarga dari jamur *Ascomycetes* membentuk lichen. Pembentukan lichen merupakan cara pengambilan nutrisi dengan jamur yang tidak berhubungan dan juga strategi ekologi (Muzayyinah, 2005).

### 2.II.2.1 Siklus Hidup *Lichen*

Siklus hidup *lichen* terdiri dari dua fase yaitu fase seksual dan aseksual. Alga melakukan proses reproduksi dengan pembelahan sel, sedangkan pada jamur akan terjadi siklus secara normal. Hal ini yang menyebabkan proses pembentukan tubuh buah seperti apothecia, perithecia, pycnidia yang menghasilkan spora. Spora tersebut akan berkecambah dan menghasilkan mycelium baru dimana jika berkombinasi dengan alga yang cocok akan menghasilkan thallus lichen yang baru. Fase eseksual (perbanyak secara vegetative) dengan bantuan propagula khusus *lichen* hal ini yang menghasilkan propagula vegetative soredia, isidia, lobula dan fragmen-fragmen. Setelah tumbuh, makan akan meninggalkan tubuh lichen an berkembang menjadi thallus yang baru (Bhat,Dudani, & Chandran, 2011).



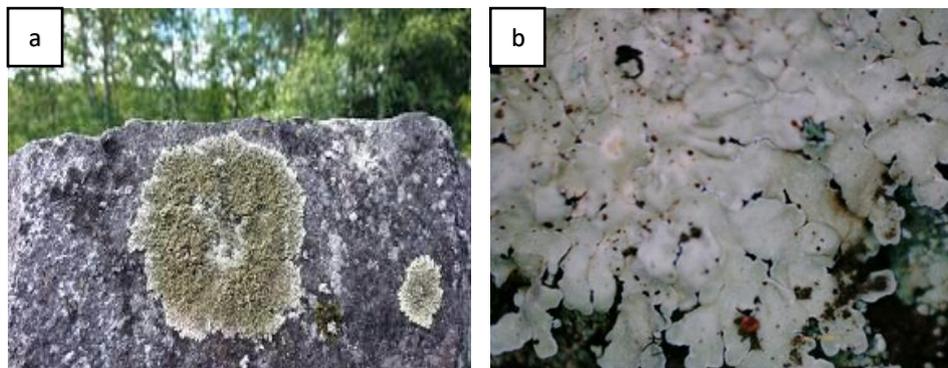
**Gambar 4. Siklus Hidup *Lichen***

### 2.II.2.3 Jamur Pada Batuan

Batuan dapat di definisikan sebagai material yang terbentuk secara alami dan terkonsolidasi yang terdiri dari satu atau lebih mineral. Mineral adalah padatan kristal anorganik dengan komposisi kimia tertentu. Jamur yang menghuni batuan telah dilaporkan di batuan beku dan batuan sedimen termasuk jenis silika (silika, silikat dan aluminosilikat), batu pasir, granit, batu kapur, sedimen, marmer dan

gypsum, dan bahkan dari lingkungan ekstrim seperti gurun panas dan dingin. Jamur yang terdapat pada batuan dapat menyebabkan terjadinya pelapukan dan diagenesis. Selain itu pelapukan batuan juga disebabkan oleh hasil ekskresi metabolit misalnya  $H^+$ , hujan asam, bahan kimia yang menyebabkan kerusakan pada permukaan batuan (Stringer, 2000).

Keterbatasan nutrisi, defisit kelembaban dan paparan radiasi matahari membuat substrat batuan menjadi salah satu habitat yang paling tidak ramah bagi kehidupan mikroba. Namun demikian, banyak jamur dan lumut telah berevolusi untuk bertahan hidup dan mengeksploitasi habitat mikro di dalam dan di permukaan batuan. Jamur biasanya tinggal di batuan, sedimen dan batuan jenis silika (silikat dan aluminosilikat) batu pasir, granit, batu kapur, marmer dan gipsum, dan bahkan dari lingkungan yang ekstrim seperti gurun panas dan dingin (Stringer & Stringer, 2000).



**Gambar 5. a) *Lichen* diamati visual, b) *Lichen* diamati menggunakan *handy microscop***

*Lichen* adalah komponen mikroflora yang dapat bertempat di semua jenis batuan yang bersimbiosis dengan jamur *cyanobacteria*, *chemolitho-* dan *chemoorganotrophic* dan alga, yang merupakan bagian dari komunitas mikroba epilitik dan endolitik. Jamur epilitik biasanya bertempat pada permukaan batuan, di mana akan terjadi simbiosis dengan alga atau *cyanobacteria* sebagai lumut. Selain itu jamur juga dapat menempati sub-permukaan batuan sebagai endolit pada retakan

dan retakan yang sudah ada sebelumnya atau sebagai kriptodolit pada pori-pori dan rongga mineral batuan (Burford et al., 2003).

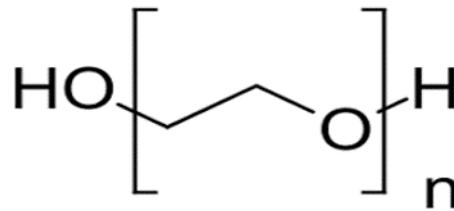
### **II.2.3 Agen penstabil nanopartikel**

Agen penstabil berfungsi sebagai stabilisasi elektrostatik, stabilisasi sterik, stabilisasi oleh gaya hidrasi, stabilisasi deplesi dan stabilisasi menggunakan gaya van der Waals (Ajitha et al., 2016). Selain peran utama mereka dalam menstabilkan nanopartikel, beberapa capping agent (misalnya sitrat) mampu melakukan peran tambahan dalam mereduksi ion logam (misalnya, ion perak) menjadi nanopartikel logam. Oleh karena itu, pemilihan bahan penutup memainkan peran penting dalam proses sintesis nanopartikel, dan bahan penutup juga mempengaruhi sifat partikel nano. Nanopartikel yang stabil akan berfungsi dengan baik pengaplikasiannya (Ajitha et al., 2016).

#### **II.2.3.1 Poly Etylene Glikol (PEG)**

Zat penstabil yang digunakan dalam pembuatan nanopartikel harus dapat di campurkan dengan bahan dan larut di dalamnya untuk mendukung pembentukan ukuran partikel. Ukuran partikel yang semakin kecil belum tentu memiliki stabilitas yang baik. Partikel berukuran nanometer memiliki *surface area* yang besar dengan *surface area* yang besar ikatan kimia antara partikel membentuk dipol sehingga dapat beraglomerasi. Hal ini karena nanopartikel memiliki kecenderungan untuk beraglomerasi. Oleh karena itu stabilisator dalam sintesis nanopartikel perak berperan penting (Kadam et al., 2015). Dalam penelitian ini menggunakan surfaktan Tween 80 dan Ko-surfaktan PEG sebagai agen penstabil minyak atsiri yang telah di sintesis dengan nanopartikel perak. Peg adalah Polimer sintetik yang larut dalam air berbahan dasar oxyethylene, dengan struktur umum  $H-[O-CH_2-CH_2]_n-OH$ . Bahan-bahan ini tersedia dalam berbagai berat molekul, mulai dari cairan pada suhu kamar (PEG 200-600), semipadat (PEG 1500), padatan semikristalin (PEG 3000–20000 ke atas) dan padatan resin untuk bobot molekul yang lebih tinggi ( $> 100000$ ) (Craig, 1995). Dalam penelitian sintesis nanopartikel perak dengan minyak pala menggunakan PEG karena sifatnya tidak toksik, tidak ada antigenisitas dan immunotoxicity, non-interferensi.

Salah satu agen penstabil yang digunakan adalah PEG 400 yang mampu membantu kelarutan zat terlarut dalam medium dispers dengan meningkatkan fleksibilitas lapisan sekitar area droplet. PEG 400 memiliki bobot jenis 1,110 sampai 1,140 berbentuk berupa cairan kental jernih, tidak berwarna, praktis tidak berbau, sedikit higroskopis. PEG larut dalam air, aseton, alkohol, benzen dan gliseril (Rowe et al., 2009).



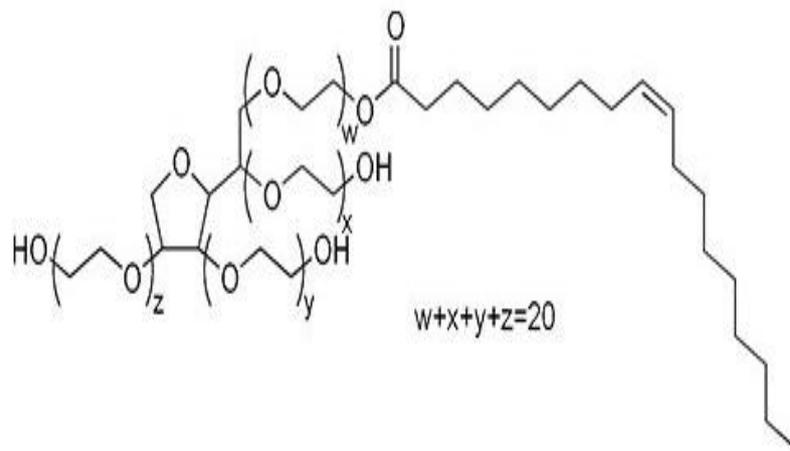
**Gambar 6. Struktur PEG 400**

Struktur khas dari PEG menyebabkan misibel dengan air melalui ikatan hydrogen. Bagian hidrokarbon yang bersifat hidrofobik dari struktur polietilen glikol (PEG) 400 membantu memutuskan ikatan hydrogen diantara molekul air sehingga mengurangi interaksi intermolekul air yang dapat menyebabkan momen dipol (kepolaran) air menjadi menurun dan komponen hidrofobik dapat masuk ke dalam rongga antar molekul air.

### **II.2.3.2 Surfaktan Tween 80**

Tween 80 (Polysorbat 80) berbentuk cairan kental berwarna kuning. Larut dalam air, dalam minyak biji kapas, praktis tidak larut dalam minyak mineral. Inkompatibilitas dengan perubahan warna dan/atau pengendapan terjadi dengan berbagai zat. Digunakan dalam formulasi sediaan sebagai emulsifying agent (nonionik surfaktan).

Tween 80 merupakan surfaktan non-ionik hidrofilik rumus  $C_{64}H_{124}O_{26}$  yang digunakan secara luas sebagai agen pengemulsi pada emulsi minyak dalam air. Selain itu tween 80 juga digunakan sebagai bahan untuk meningkatkan kelarutan dari minyak esensial dan vitamin yang larut dalam minyak juga digunakan sebagai agen pembasah pada suspensi oral dan parenteral. Tween 80 termasuk ke dalam jenis surfaktan non-ionik karena tween 80 tidak memiliki muatan saat berada dalam air, pada strukturnya terdapat gugus hidrofilik yang dapat menyebabkan terbentuknya ikatan hidrogen apabila direaksikan dengan air. Tween 80 memiliki karakteristik cairan minyak berwarna kuning pada suhu  $25^{\circ}C$ , memiliki bau yang khas, memberikan sensasi hangat pada kulit, serta berasa pahit (Rowe et al., 2009). Dalam makan dan produk farmasi tween dapat bertindak sebagai pengemulsi, pelarut antar zat serta bertindak sebagai surfaktan dan meningkatkan kelarutan antar zat yang biasanya tidak larut dalam larutan tertentu. Struktur tween 80 secara di tunjukkan pada Gambar 7.



**Gambar 7. Struktur tween 80**

#### II.2.4 Nanopartikel Perak

Perkembangan nanoteknologi sudah mulai diaplikasikan hampir di semua bidang ilmu. Nanoteknologi memiliki peran penting dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi saat ini untuk kesejahteraan kehidupan manusia. Istilah "nanoteknologi" di definisikan oleh (Pal et al., 2019) sebagai berikut:

"Nanoteknologi berhubungan dengan proses pemisahan, konsolidasi, dan deformasi bahan oleh satu atom atau oleh satu molekul" dengan kata sederhana, adalah ilmu rekayasa materi pada skala molekul dan atom. Pengembangan dan pemanfaatan nanomaterial telah memberikan solusi alternatif yang lebih andal dan berkelanjutan untuk teknologi dan lingkungan di berbagai bidang seperti elektronik (Fratolocchi et al., 2015). Aplikasi biomedis, industri makanan, industri kimia, industri farmasi, kesehatan lingkungan, mekanik, dan optik (Fratolocchi et al., 2015). Melalui nanoteknologi, dapat dibuat material pada skala nano atau nanopartikel (Haryono et al., 2008).

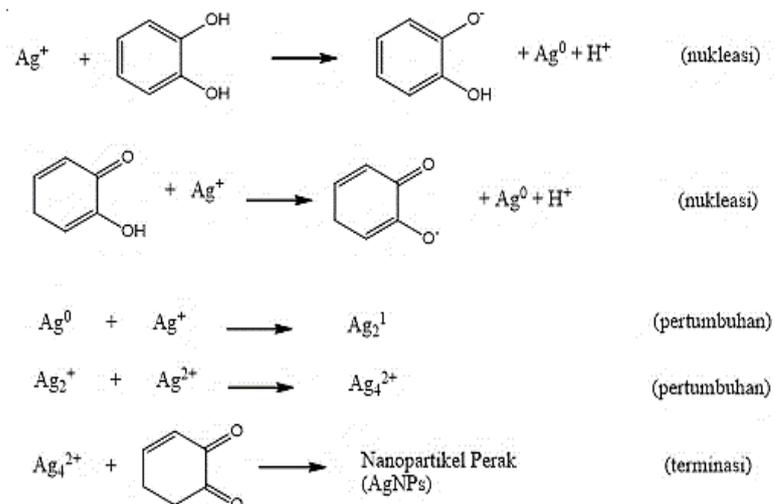
Nanopartikel logam banyak menarik perhatian karena aplikasinya yang luas antara lain di bidang optik, elektronik, biologi, katalis dan kedokteran (Wahyudi et al., 2011). Hal ini disebabkan karena material berukuran nano memiliki sifat lebih menguntungkan daripada yang berukuran besar. Sehingga banyak penelitian dilakukan untuk menghasilkan suatu produk berskala nanopartikel. Penggunaan nanopartikel menjadi tren dalam bidang medis modern. Partikel dengan ukuran 1–100 nm menjadi subjek yang digunakan sebagai aplikasi dalam berbagai bidang salah satunya di bidang kesehatan seperti diagnostik, pengobatan kanker dan delivery obat. (Brigger et al., 2002).

Nanopartikel perak merupakan salah satu nanopartikel logam yang paling banyak disintesis. Dalam bentuk ionnya, perak merupakan agen antibakteri yang kuat dan bersifat toksik bagi sel (Haryono et al., 2008). Aktivitas antibakteri dari perak meningkat ketika ukurannya semakin kecil. Semakin kecil ukuran perak, luas permukaan semakin besar dan meningkatkan kontak dengan bakteri atau jamur (Lee et al., 2010). Berat, bentuk dan ukuran nanopartikel perak serta waktu pendiaman kontak dengan bakteri merupakan faktor yang berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri nanopartikel. Nanopartikel sedang dipandang sebagai blok bangunan fundamental nanoteknologi. Sifat nanopartikel yang paling penting dan berbeda yaitu memiliki rasio luas permukaan yang lebih besar.

Nanopartikel yang paling efektif dipelajari saat ini adalah yang terbuat dari logam mulia, khususnya Ag, Pt, Au dan Pd. Atau terdiri dari oksida logam, silikat, polimer, organik, atau karbon. Selain sifat kimianya yang beragam, nanopartikel dapat diproduksi dalam morfologi yang berbeda seperti bola, silinder, lembaran, atau tabung. Keragaman morfologi dan kimia dari nanopartikel menghasilkan bentuk yang bergantung pada jenis media yang dibuat, serta jumlah senyawa bioaktif yang ada dalam media (Pal et al., 2019). Karakteristik dari nanopartikel logam meliputi:

- Rasio luas permukaan terhadap volume yang besar
- Energi permukaan besar
- Struktur elektronik spesifik (yaitu, keadaan padatan) yang disediakan oleh transisinya antara keadaan molekul dan logam
- Eksitasi plasmon
- Quantum confinement

Nanopartikel logam memiliki aplikasi luar biasa di bidang optoelektronik katalisis, probe biologis, diagnostik, dan perangkat tampilan. Nanopartikel perak memainkan peran penting dalam bidang sistem biologi, organisme hidup dan obat-obatan (Gurunathan et al., 2009).



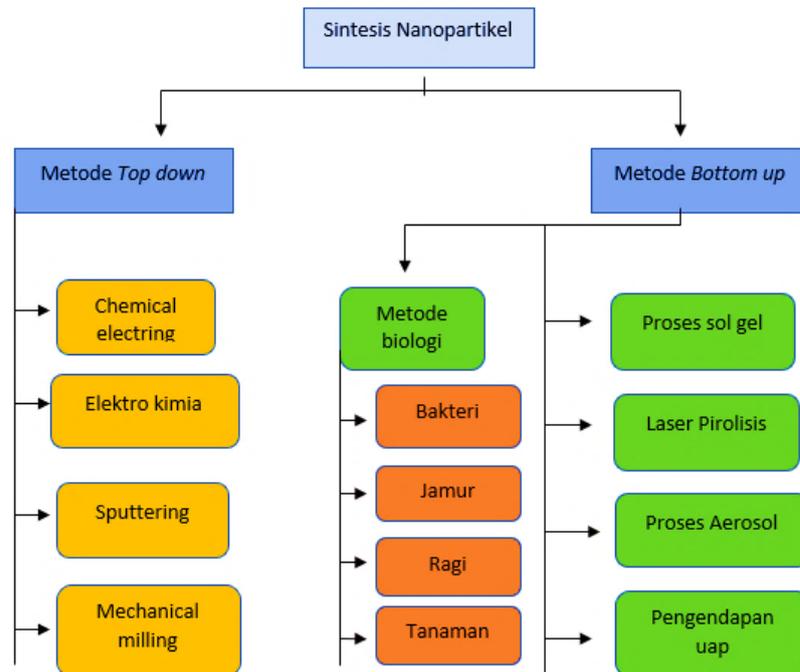
**Gambar 8. Reaksi umum pembentukan AgNPs**

Mekanisme umum reaksi pembentukan nanopartikel seperti pada Gambar 8. Langkah pertama dari sintesis, yang dikenal sebagai reaksi reduksi, melibatkan reduksi prekursor ion logam dengan bantuan zat pereduksi. Ini menginduksi nukleasi atom dan kemudian pertumbuhan inti (biji) menjadi nanopartikel logam yang mengandung gugus fungsi aldehid dalam tanaman dapat berfungsi sebagai reduktor ion perak. Gugus fungsi dalam senyawa metabolit sekunder mendonorkan elektron ke ion  $\text{Ag}^+$  untuk menghasilkan Ag partikel-nano (Masakke et al., 2014). Mekanisme umum reaksi pembentukan nanopartikel seperti berikut: Langkah pertama dari sintesis, yang dikenal sebagai reaksi reduksi, melibatkan reduksi prekursor ion logam dengan bantuan zat pereduksi. Ini menginduksi nukleasi atom dan kemudian pertumbuhan inti (biji) menjadi nanopartikel logam.

Perak nitrat dilarutkan ke dalam air mengalami disosiasi menjadi ion perak positif ( $\text{Ag}^+$ ) dan ion nitrat negatif ( $\text{NO}_3^-$ ). Untuk mengubah  $\text{Ag}^+$  menjadi  $\text{Ag}^0$  diperlukan proses reduksi dengan menerima elektron dari donor. Otari et al. (2014), menyatakan bahwa komponen biomolekul seperti flavonoid, terpenoid, asam amino, alkaloid, senyawa fenolik dan biomolekul yang mengandung gugus fungsi aldehid dalam tanaman dapat berfungsi sebagai reduktor ion perak. Gugus fungsi dalam senyawa metabolit sekunder mendonorkan elektron ke ion  $\text{Ag}^+$  untuk menghasilkan Ag partikel-nano (Masakke et al., 2014).

### **II.2.5 Metode nanopartikel**

Secara umum sintesis nanomaterial dilakukan dengan dua cara yaitu dengan metode top-down dan bottom-up. Proses *bottom up dan top down* dapat dilakukan berdasarkan konsep Brick yaitu dengan memecah dinding menjadi komponen-komponennya (batu bata) sebagai ilustrasi metode top-down sedangkan pembuatan batu bata dari bahan awal seperti tanah liat, pasir, kapur sebagai ilustrasi metode bottom up. Nanopartikel perak dapat dihasilkan dari metode fisika, kimia dan biologi.



**Gambar 9. Berbagai metode sintesis nanopartikel**

### II.2.5.1 Metode Kimia

Metode kimia yang paling umum digunakan adalah metode sol-gel, teknik mikroemulsi, sintesis hidrotermal, sintesis poliol, dan sintesis uap kimia. Reduksi kimia dengan agen pereduksi organik dan anorganik seperti  $\text{NaBH}_4$  adalah pendekatan yang paling umum untuk sintesis nanopartikel perak. Zat pereduksi penting lainnya termasuk natrium sitrat, hidrokuinon, asam galat, dan unsur hidrogen. Umumnya, reaksi ini dilakukan dalam larutan, dan produk memiliki karakteristik koloid. Istilah umum yang digunakan untuk fenomena keseluruhan adalah kopresipitasi, yang melibatkan kesamaan fenomena yang berbeda: reduksi, nukleasi, pertumbuhan, pengkasaran, dan/atau aglomerasi (Pal et al.,2019).

Zat pereduksi mereduksi ion perak ( $\text{Ag}^+$ ) dan membentuk logam perak ( $\text{Ag}^0$ ), yang diikuti oleh aglomerasi menjadi kluster oligomer (Ahmad et al.,2003). Cluster ini akhirnya mengarah pada pembentukan partikel logam koloid perak (Mohanpuria et al., 2008). Surfaktan yang terdiri dari fungsionalitas (misalnya, tiol, amina, asam, dan alkohol) untuk interaksi dengan permukaan partikel dapat

menstabilkan partikel dan melindungi partikel dari sedimentasi, aglomerasi, atau hilangnya sifat permukaannya. Nanopartikel dalam jumlah besar dapat disintesis menggunakan metode reduksi kimia, tetapi kelemahan utamanya adalah reagen bersifat toksik dan produk sampingan yang dihasilkan tidak ramah lingkungan. Metode ini dilakukan dengan cara membentuk partikel-partikel nano dari prekursor molekular atau ionik dan dengan penambahan agen pereduksi untuk mereduksi ion logam menjadi nanopartikel logam (Kadam et al., 2015).

#### **II.2.5.2 Metode Fisika**

Vapor Condensation Method (VCM) melalui dua langkah yaitu penguapan dan kondensasi menggunakan tube furnace pada tekanan atmosfer. Bahan pada tube furnace diuapkan menjadi gas pembawa. Metode VCM ini dapat digunakan untuk menghasilkan berbagai partikel nano seperti Ag, Au, PbS. Prinsip dari metode VCM adalah bahan target diuapkan oleh sumber panas kemudian dengan segera mengalami kondensasi dan akhirnya menghasilkan nanopartikel (Chernousova & Epple, 2013).

#### **II.2.5.3 Metode Biologi**

Metode biologis termasuk sintesis nanopartikel menggunakan bakteri, jamur, atau tanaman. Persyaratan utama sintesis hijau nanopartikel perak adalah larutan ion logam perak dan agen biologis pereduksi. Dalam kebanyakan kasus, zat pereduksi atau konstituen lain yang ada di dalam sel bertindak sebagai zat penstabil dan zat penutup, sehingga tidak perlu menambahkan zat penutup dan zat penstabil dari luar. Agen pereduksi didistribusikan secara luas dalam sistem biologis. AgNPs telah disintesis menggunakan organisme berbeda yang termasuk dalam empat dari lima kingdom organisme hidup, yaitu, monera (organisme prokariotik tanpa inti sejati), protista (organisme uniseluler dengan inti sejati), jamur (eukariotik, saprofit/parasit), dan plantae (eukariotik, autotrof) (Mohanpuria et al., 2008).

#### **II.2.5.4 Metode Green Synthesis**

Seperti pada pembahasan sebelumnya nanopartikel dapat disintesis dengan berbagai metode seperti metode fisika, kimia. Hasil dari sintesis nanopartikel dengan metode fisika dan kimia menyebabkan masalah toksisitas serta masalah lingkungan. Metode fisika misalnya penggunaan tungku tabung atau furnace menghasilkan panas dalam jumlah besar dan meningkatkan suhu lingkungan selain

itu juga membutuhkan waktu pendiaman yang lama. Sedangkan metode kimia penggunaan pelarut dan bahan kimia yang dapat menyebabkan kerusakan lingkungan dan toksisitas.

Pengembangan nanopartikel dengan konsep nanoteknologi hijau yang hemat, sederhana dan ramah lingkungan. Produk nanopartikel yang telah dihasilkan dari sintesis nanoteknologi hijau telah digunakan dalam berbagai aplikasi. Sintesis nanoteknologi hijau secara umum menggunakan metode biologi seperti bakteri, jamur atau tumbuhan untuk sintesis partikel nano dengan bantuan teknik bioteknologi. Sintesis nanopartikel dengan metode ini menggunakan bakteri, jamur atau tumbuhan. Persyaratan utama sintesis hijau nanopartikel perak adalah larutan ion logam perak dan agen biologis pereduksi. Agen pereduksi atau konstituen yang ada didalam sel sebagai agen penstabil dan pembatas, agen pereduksi digunakan dalam system biologi. Sintesis nanopartikel perak (AgNPs) menggunakan organisme yang berbeda yaitu monera organisme prokariotik yang tidak memiliki dinding sel, protista, jamur (saprofit/ parasite) dan tumbuhan (eukariotik, autotrof).

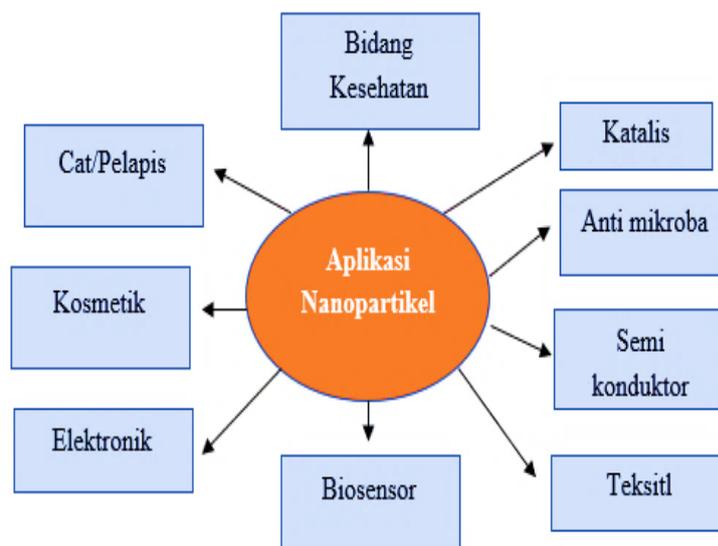
### **II.2.6 Aplikasi Nanopartikel**

Aplikasi nanopartikel dalam bidang medis dan bioteknologi lebih sederhana, aman, murah dan ramah lingkungan. Aplikasi nanopartikel dalam berbagai bidang industri kosmetik, pakaian, perangkat optic, teknologi sensor dan elektronik pelabelan elektronik dan pengobatan beberapa jenis kanker (Shinkai et al., 1999).

Hal ini dikarenakan sifat nanopartikel sebagai anti bakteri, ketahanan terhadap konsidi panas, serta oksidasi yang tinggi. Nanopartikel perak juga dapat disintesis dengan metode biologi berbasis mikroorganisme (Jayaseelan et al., 2013). Sintesis dengan mikroorganisme membutuhkan katalitik yang tinggi dengan pengerjaan yang steril untuk menghindari kontaminasi. Luasnya aplikasi dari sintesis nanopartikel menjadi salah satu alasan hingga sekarang nanopartikel terus eksis dalam berbagai bidang yang di kembangkan dan di galih lebih mendalam penelitian-penelitian yang menyangkut tentang nanopartikel. Di bawah ini ada beberapa aplikasi dari nanopartikel dalam berbagai bidang terkait. AgNPs memiliki sifat fisik, kimia, dan listrik yang unik, dan karena itu, mereka memiliki beberapa aplikasi di berbagai bidang seperti obat-obatan, optik, pengolahan air, industri

makanan, seperti terlihat pada. Aplikasi nanoteknologi dimaksudkan untuk menghasilkan material berskala nanometer, mengeksplorasi dan merekayasa karakteristik material tersebut, serta mendesain-ulang material tersebut ke dalam bentuk, ukuran, dan fungsi yang diinginkan. Nanopartikel sebagai partikulat material dengan paling sedikit satu dimensi lebih kecil dari 100 nm mempunyai luas permukaan yang besar terhadap perbandingan volume (Siregar, 2009).

Nanopartikel diintegrasikan ke dalam serat komposit, bahan superkonduktor kriogenik, dan komponen elektronik. Karena aplikasinya yang luas, diperlukan kemajuan dalam metode sintesis yang hemat biaya. AgNPs digunakan secara luas di bidang kedokteran karena penyebaran penyakit menular dan munculnya resistensi multidrug pada patogen yang membuat antibiotik yang ada tidak efektif. AgNP sedang dieksploitasi dalam industri farmasi karena toksisitasnya yang rendah dalam sel manusia dan stabilitasnya pada berbagai suhu. Karena aplikasi AgNP yang luas ini, sintesisnya telah mendapatkan banyak perhatian dari para peneliti di seluruh dunia. Aplikasi nanopartikel dalam berbagai bidang disajikan melalui skema pada Gambar 10.



**Gambar 10. Aplikasi Nanopartikel dalam berbagai bidang**

## **II.2.7 Karakterisasi Nanopartikel Perak**

Karakterisasi sangat penting untuk memastikan suatu material berukuran dalam skala nano. Dalam ilmu material, istilah "karakterisasi" mengacu pada proses umum dan luas di mana sifat dan struktur material dieksplorasi. Proses mendasar ini adalah suatu keharusan untuk pemahaman ilmiah tentang materi. Karakterisasi melibatkan teknik yang diperlukan untuk mengeksplorasi sifat material dan struktur mikroskopis, yaitu setiap proses yang berhubungan dengan analisis material seperti pengujian mekanis, analisis termal, dan penghitungan massa jenis. Karakterisasi membantu untuk menentukan komposisi dan struktur bahan, dan juga memungkinkan untuk menilai apakah metode tersebut berhasil atau tidak (Titus et al., 2019).

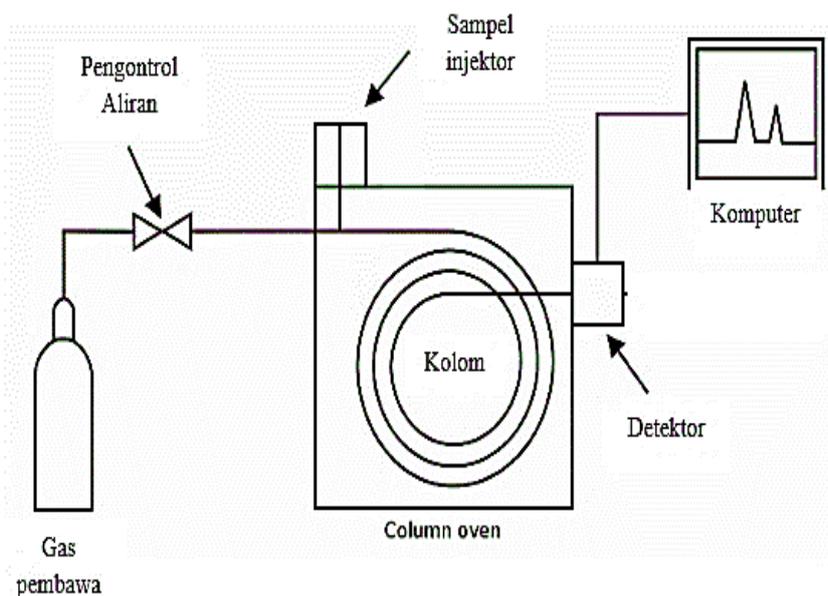
Mikroskop optik membantu mengamati bahan pada tingkat mikron dengan resolusi yang baik. Penyimpangan dan panjang gelombang yang terbatas membuat resolusi sulit diamati lebih lanjut dalam mikroskop optik. Oleh karena itu, dibutuhkan teknik yang dapat mendeteksi material dengan ukuran submikro dan nano salah satunya seperti SEM-EDX (Titus et al., 2019). Teknik ini dapat menghasilkan gambar dengan ukuran perbesaran mencapai 15000X, beberapa instrument yang digunakan untuk mendukung penelitian ini antara lain: Scanning electron microscope (SEM) analysis, energy dispersive X-ray analysis (EDX), ultraviolet-visible spectrometry (Uv-Vis), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), Particle size analyzer (PSA), GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectroscopy).

### **2.II.7.1 (Gas Chromatography-Mass Spectroscopy) GC-MS**

Salah satu metode pemisahan kimia yang paling utama adalah kromatografi. Kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS) adalah metode analisis yang menggabungkan fitur kromatografi gas dan spektrometri massa untuk mengidentifikasi zat yang berbeda dalam sampel uji. Senyawa-senyawa dalam campuran dipisahkan di dalam kolom kromatografi. Adapun mekanisme pemisahan antara beberapa senyawa terjadi karena perbedaan kelarutan masing-masing dalam pelarut yang bergerak, dan perbedaan keterserapan masing-masing senyawa kepada

fasa diam. Kromatografi gas (GC) adalah metode pemisahan yang digunakan untuk menganalisis senyawa yang mudah menguap, fasa gerak adalah gas helium.

Sedangkan Spektroskopi massa (MS) adalah metode untuk menganalisis senyawa murni yang sudah dipisahkan dari GC. Senyawa yang masuk ke “inlet” MS akan dipecah-pecah dengan bombardir elektron sehingga menjadi ion-ion. Pola pemecahan molekul akan sangat bergantung pada kestabilan ikatan yang ada dalam suatu molekul. Kromatograf gas menggunakan kolom kapiler yang bergantung pada dimensi kolom (panjang, diameter, ketebalan) serta sifat fasa (misalnya 5% fenil polisiloksan). Perbedaan sifat kimiawi antara molekul yang berbeda dalam suatu campuran akan memisahkan molekul saat sampel bergerak sepanjang kolom. Molekul membutuhkan jumlah waktu pendiaman yang berbeda (waktu pendiaman retensi) untuk keluar dari kromatograf gas, sehingga spektrometer massa akan mengionisasi, mempercepat, membelokkan, dan mendeteksi molekul secara terpisah. Spektrometer massa memecah setiap molekul menjadi fragmen terionisasi dan mendeteksi fragmen ini menggunakan rasio massa terhadap muatan.



**Gambar 11. Skema kerja GC-MS**

Komponen GC-MS jika digunakan secara bersamaan memungkinkan tingkat identifikasi zat yang lebih baik dan lebih akurat selain itu untuk mengurangi kemungkinan kesalahan yang terjadi dari pada digunakan komponennya secara terpisah. Spektrometri Massa untuk identifikasi membutuhkan sampel murni sedangkan kromatografi gas menggunakan Flame Ionization Detector untuk mendeteksi molekul dengan waktu penahanan retensi yang sama untuk melalui kolom sehingga menghasilkan dua atau lebih molekul yang di delusi secara bersamaan (Sahil et al., 2011).

### **2.II.7.1.2 Fragmentasi**

Sampel ditembak dengan arus partikel berenergi tinggi menghasilkan ion dengan kelebihan energy (ion radikal) yang bisa memecah dan tidak bisa memecah. Ion yang bisa memecah disebut ion induk (parent ion), ion induk akan terfragmentasi menjadi ion positif, negative dan netral. Ion negative akan tertarik ke anoda untuk dinetralkan dan dihisap oleh pompa vakum bersama-sama dengan fragmen netral. Sedangkan partikel bermuatan positif menuju tabung analisator, partikel-partikel ini melewati medan magnet sehingga lintasannya melengkung. Pada awalnya ion radikal bergetar karena tidak stabil sehingga dengan adanya fragmentasi akan menyebabkan ion menjadi lebih stabil dan ion induk akan memecah. Berikut adalah urutan ion yang mudah mengalami fragmentasi:  $\text{CH}_3^+ < \text{RCH}_2^+ < \text{R}_2\text{CH}^+ < \text{R}_3\text{C}^+ < \text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2^+ < \text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2^+$ .

### **II.2.7.2. Spektrofotometri UV-VIS**

Spektrofotometri uv-vis merupakan teknik analisis spektroskopik yang menggunakan sumber radiasi elektromagnetik ultra violet dekat (190-380) dan sinar tampak (380-780 nm). Sinar ultraviolet dan sinar tampak memberikan energi yang cukup untuk terjadinya transisi elektronik. Dengan demikian, spectra ultraviolet dan spectra tampak dikatakan sebagai spectra elektronik. Keadaan energi yang paling rendah disebut dengan keadaan dasar (ground state). Transisi-transisi elektronik akan meningkatkan energi molecular dari keadaan dasar ke satu atau lebih tingkat energi tereksitasi. Spektroskopi adalah studi mengenai interaksi cahaya dengan atom dan molekul. Dasar Spektroskopi UV adalah serapan cahaya, radiasi cahaya atau elektromagnet dapat dianggap menyerupai gelombang. Bila cahaya jatuh pada

senyawa, maka sebagian dari cahaya diserap oleh molekul-molekul sesuai dengan struktur dari molekul senyawa tersebut. Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum UV-Vis tergantung pada struktur elektronik dari molekul.

Spektrofotometri UV-Visible dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Pada umumnya sampel harus diubah menjadi suatu larutan yang jernih Untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain: 1). Harus melarutkan sampel dengan sempurna 2). Pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel) 3). Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis 4). Kemurniannya harus tinggi. Interaksi sinar ultraviolet atau sinar tampak menghasilkan transisi elektronik dari elektron-elektron ikatan, baik ikatan) maupun elektron non ikatan (n) yang ada pi ( $\pi$ ) dan sigma ( $\sigma$ ) dalam molekul organik. Elektron-elektron ini berada di bagian luar dari molekul organik.

Transisi elektronik yang terjadi merupakan perpindahan elektron dari orbital ikatan atau non ikatan ke tingkat orbital antiikatan atau disebut dengan tingkat eksitasi. Orbital ikatan atau non ikatan sering disebut dengan orbital dasar, sehingga transisi elektron sering dinyatakan sebagai transisi elektron dari tingkat dasar ke tingkat tereksitasi. Tingkat tereksitasi dari elektron molekul organik hanya ada dua jenis, yaitu pi bintang ( $\pi^*$ ) dan sigma bintang ( $\sigma^*$ ), sehingga bila molekul organik yang memiliki elektron-elektron sigma, pi, dan elektron nonikatan, misalnya pada molekul aseton, maka tipe transisi elektroniknya meliputi  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ,  $\sigma \rightarrow \pi^*$ ,  $\pi \rightarrow \pi^*$ ,  $\pi \rightarrow \sigma^*$ ,  $n \rightarrow \sigma^*$ ,  $n \rightarrow \pi^*$ . Agar terjadi transisi elektronik ini, diperlukan energi yang besarnya sesuai dengan jenis elektron ikatan dan non ikatan yang ada dalam molekul organik (Suhartati, 2017).

### **II.2.7.3 Spektroskopi Inframerah Transformasi Fourier (FTIR)**

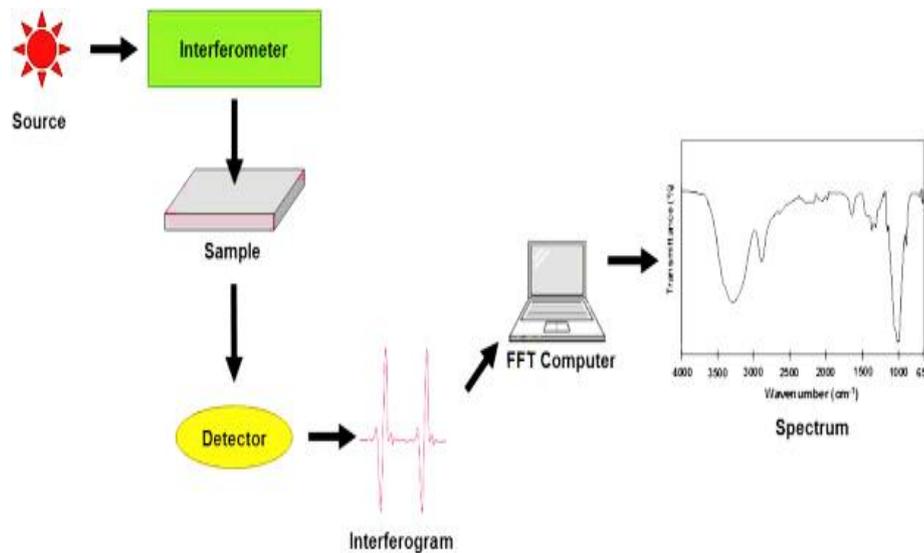
Instrumen FT-IR radiasi infra merah dilewatkan pada sampel. Sebagian radiasi sinar infra merah diserap oleh sampel dan sebagian lainnya diteruskan. Jika frekuensi dari suatu vibrasi spesifik sama dengan frekuensi radiasi infra merah yang langsung menuju molekul, molekul akan menyerap radiasi tersebut. Spektrum yang

dihasilkan menggambarkan penyerapan dan transmisi molekuler. Transmisi ini akan membentuk suatu sidik jari molekuler suatu sampel. Karena bersifat sidik jari, tidak ada dua struktur molekuler unik yang menghasilkan spektrum infra merah yang sama (Kencana, 2009).

FTIR berupa laser inframerah. Cahaya inframerah memiliki energi yang lebih rendah jika dibandingkan dengan ultraviolet dan sinar tampak. Hal tersebut menentukan tebal yang dipakai, yaitu sekitar 0.02 mm. Sampel berupa padatan yang dicampur dengan KBr kering di dalam mortar. Campuran tersebut dipadatkan hingga menjadi pelet tipis yang akan dibaca dalam FTIR. Prisma P merupakan tempat terjadinya pemisahan komponen cahaya monokromatik. Rotasi perlahan prisma menghasilkan suatu radiasi dengan frekuensi yang berbeda, kemudian radiasi tersebut jatuh pada detector. Detektor dapat merekam frekuensi dan menghasilkan aliran radiasi .

Hasil FTIR berupa puncak yang terlihat dimonitor, puncak tersebut muncul sesuai dengan gugus fungsi yang khas pada sampel tersebut (Elizabeth, 2011). Spektrum inframerah suatu molekul adalah hasil transisi antara tingkat energy getaran (vibrasi) yang berlainan. Inti-inti atom yang terikat oleh ikatan kovalen mengalami getaran (vibrasi) atau osilasi (Oscillation) dengan cara serupa dengan dua bola yang terikat oleh suatu pegas. Bila molekul menyerap radiasi inframerah, energi yang diserap menyebabkan kenaikan dalam amplitudo getaran atom-atom yang terikat itu. Jadi molekul ini berada dalam keadaan vibrasi tereksitasi, energi yang diserap ini akan dibuang dalam bentuk panas bila molekul itu kembali ke keadaan dasar. Panjang gelombang eksak dari absorpsi oleh suatu tipe ikatan, bergantung pada macam getaran dari ikatan tersebut. Oleh karena itu, tipe ikatan yang berlainan (C-H, C-C, C=O, C=C, O-H) menyerap radiasi inframerah pada panjang gelombang yang berlainan. Dengan demikian spektrometri inframerah dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya gugus fungsi dalam suatu molekul. Banyaknya energi yang diserap juga beraneka ragam dari ikatan ke ikatan. Ini disebabkan sebagian oleh perubahan dalam momen dipol ( $\mu \neq 0$ ) pada saat energy diserap. Ikatan nonpolar (seperti C-H atau C-C) menyebabkan absorpsi lemah,

sedangkan ikatan polar (seperti misalnya O-H, N-H, dan C=O) menunjukkan absorpsi yang lebih kuat.



**Gambar 12. Skema kerja FTIR**

$$S_0(\omega) = 2DK^2 / \{(2DK^2)^2 + \omega^2\}$$

S = Frekuensi / intensitas

$\omega$  = Frekuensi angular dari partikel

D = Koefisien Difusi

K = Vektor Hamburan

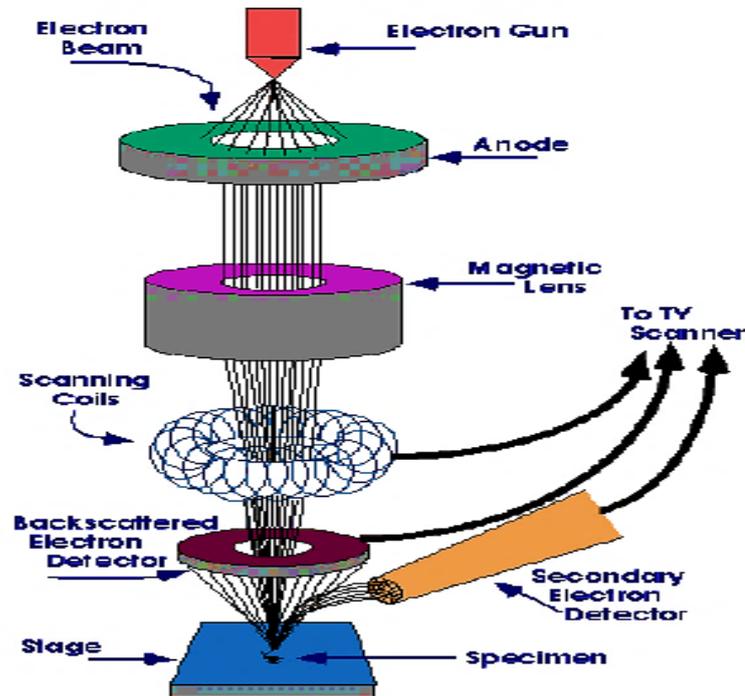
dilakukan verifikasi untuk mengkonfirmasi bahwa alat tersebut dapat memberikan hasil yang valid dan realible. Verifikasi PSA ini dilakukan dengan beberapa variasi pengoperasian dan pengenceran. Variasi cara pengoperasian yang digunakan adalah secara otomatis dan manual. Pada masing-masing pengoperasian terdapat dua macam bentuk grafik distribusi yang digunakan, yaitu bentuk standard dan sharp. Cara otomatis adalah pengoperasian secara langsung sebanyak enam kali pengukuran dengan satu kali proses preparasi sampel. Sedangkan cara manual adalah pengoperasian untuk satu kali pengukuran dengan satu kali proses preparasi sampel. Standar yang digunakan adalah polistiren latex (PSL) yang merupakan standar akurat dan mampu telusur karena sudah terkalibrasi oleh National Institute

of Standards and Technology (NIST). Dalam sertifikat NIST tercantum bahwa standar berukuran  $102 \pm 3$  nm.

#### **II.2.7.5 SEM-EDX**

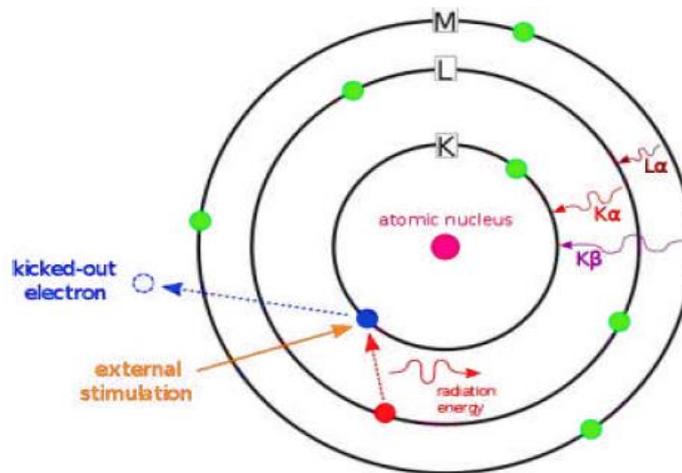
SEM merupakan alat yang dapat membentuk bayangan permukaan spesimen secara mikroskopik. Berkas elektron dengan diameter 5-10 nm diarahkan pada spesimen. Interaksi berkas elektron dengan specimen menghasilkan beberapa fenomena yaitu hamburan balik berkas elektron, sinar -X, elektron sekunder dan absorpsi elektron. Energy dispersive X-ray (EDX) analisis merupakan sebuah alat yang dapat menganalisis secara kuantitatif dan kualitatif. Sampel nanopartikel dapat di analisis dengan EDX, yang mengandung ion logam. Misalnya, nanopartikel seperti perak, emas, palladium dan sebagainya di permukaan dapat dengan mudah diidentifikasi menggunakan EDX (Titus et al., 2019).

Sem-Edx merupakan gabungan dari dua jenis instrument yaitu sem dan edx. Sem (Scanning electron Microscope) adalah instrumen yang berfungsi untuk mengetahui morfologi atau struktur permukaan dari suatu sampel. Sementara edx (Energy Dispersive X-Ray) adalah instrumen yang berfungsi untuk menganalisis unsur atau karakteristik kimia dari suatu material. SEM-EDX dapat memberikan informasi tentang topografi, morfologi, komposisi dari sampel yang dianalisis (Girão et al., 2017). Topografi adalah kemampuan untuk menganalisa permukaan dan texture. Morfologi adalah kemampuan untuk menganalisa bentuk dan ukuran dari sampel. Komposisi adalah kemampuan menganalisa komposisi dari permukaan benda secara kuantitatif dan kualitatif (Girão et al., 2017).



**Gambar 13. Skema Scaning Electron Mikroskop (SEM)**

Perangkat EDX yang terintegrasi dengan SEM memungkinkan dilakukannya mikroanalisis secara kualitatif dan semi kuantitatif untuk unsur-unsur mulai dari Litium (Li) sampai Uranium (U). EDX dihasilkan dari Sinar-X karakteristik, yaitu dengan menembakkan sinar-X pada posisi yang ingin kita ketahui komposisinya X pada posisi yang ingin kita ketahui komposisinya Setelah ditembakkan pada posisi yang diinginkan maka akan muncul puncak-puncak tertentu yang mewakili suatu unsur yang terkandung. Perangkat lunak (*software*) akan secara otomatis mengidentifikasi jenis unsur/elemen yang terkandung pada sampel yang dikenal dengan *element identification*. EDX bisa digunakan untuk menganalisa secara kuantitatif dari persentase kandungan masing-masing elemen (Cahyana et al., 2014). Skema pengujian EDX dapat dilihat pada Gambar 14.



**Gambar 14. Skema pengujian EDX**

## II.2.8 Uji Aktivitas Antimikroba

Tujuan pengukuran aktivitas mikroba adalah untuk menentukan potensi suatu zat yang diduga atau telah memiliki aktivitas sebagai mikroba dalam larutan terhadap suatu bakteri (Jawetz et al., 2001). Macam-macam metode uji aktivitas antimikroba antara lain.

### II.2.8.1 Metode pengenceran agar

Metode pengenceran agar sangat cocok untuk pemeriksaan sekelompok besar isolat versus rentang konsentrasi antimikroba yang sama (Sacher & McPherson, 2004). Kelemahan metode ini yaitu hanya dapat digunakan untuk isolasi tipe organisme yang dominan dalam populasi campuran (Jawetz et al., 2005).

### II.8.1.2 Difusi agar

Metode difusi digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih pada permukaan media agar mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba (Pratiwi, 2008). Metode difusi agar dibedakan menjadi dua yaitu cara Kirby Bauer dan cara sumuran 1) Cara Kirby Bauer Metode difusi disk (tes Kirby Bauer) dilakukan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar

tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008). Keunggulan uji difusi cakram agar mencakup fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih obat yang akan diperiksa (Sacher dan McPherson, 2004). 2) Cara sumuran Metode ini serupa dengan metode difusi disk, di mana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Pratiwi, 2008). 2) Metode dilusi padat Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

### **II.8.1.3 Metode dilusi**

Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair dan dilusi padat. 1) Metode dilusi cair Metode ini mengukur KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji (Pratiwi, 2008).

## **II.3 Hipotesis**

Berdasarkan penjelasan dalam latar belakang dan tinjauan pustaka, maka diperoleh hipotesis sebagai berikut:

1. Nanopartikel perak yang disintesis langsung tanpa penambahan air menggunakan minyak atsiri biji pala efektif menghambat pertumbuhan lichen.
2. Sintesis nanopartikel perak dengan penambahan surfaktan Tween 80 dapat menstabilkan pembentukan EO-AgNPs.

## **BAB III**

### **METODELOGI PENELITIAN**

#### **III.1 Alat dan Bahan**

Seperangkat alat gelas kimia, Botol sampel 10 mL, botol semprot 5 mL, pipet tetes, sendok sungu, neraca analitik, refraktometer ,plastik tube, batang L, cawan petri, Erlenmeyer 500 mL, tabung reaksi, scahfel, laminar, api Bunsen, , Sentrifugasi, microwave, autoclave, incubator, oven, pinset, kawat ose, handy mikroskop, SCAN 500, Gas Chromatograph Mass Spectroscopy (GC-MS), Spektrofotometer UV-Vis (Ultra Violet-Visible), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Particle Size Analyzer (PSA) dan Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-Ray (SEM-EDX).

Bahan-bahan yang diperlukan antara lain minyak atsiri biji pala, perak nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ), natrium sulfat anhidrat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), *polysorbate 80* (tween 80), polietilen glikol 400 (PEG-400), fresh sampel lichens, *Potato Dextrose Agar* (PDA), alkohol 70%, plastik wrap, aluminium foil, kapas, kertas saring dan aquades.

#### **III.2 Sintesis Minyak atsiri biji pala-Nanopartikel Perak (EO-AgNPs)**

Sintesis nanopartikel perak seperti yang telah dilakukan dengan mencampurkan padatan  $\text{AgNO}_3$  sebanyak 0,017gram secara langsung ke minyak atsiri biji pala 10 mL dalam gelas beaker 25 mL. Campuran diaduk setelah proses pengadukan dimasukkan ke dalam botol berukuran 10 mL hingga homogen dan disimpan selama 24 jam pada suhu ruang. Stabilitas EO-AgNPs diamati sesuai dengan parameter penelitian dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

##### **III.2.1 Pengaruh Variasi Waktu penyimpanan terhadap EO-AgNPs**

Sintesis EO-AgNPs dilakukan dengan mencampurkan 0,017gram  $\text{AgNO}_3$  langsung ke 10 mL minyak atsiri biji pala dalam gelas beaker 25 mL. Campuran diaduk hingga homogen dan disimpan selama 24 jam pada suhu ruang. Stabilitas EO-AgNPs diamati selama 1, 3, 5, 7 dan 9 hari. Secara berkala, campuran reaksi diamati perubahan warnanya dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

### **III.2.2 Pengaruh Variasi Konsentrasi Berat Perak Nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) terhadap EO-AgNPs**

Sintesis EO-AgNPs dilakukan pada variasi konsentrasi berat perak nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) 1, 3,5, 5, 7,5 dan 10 mM  $\text{AgNO}_3$  dalam minyak atsiri biji pala dan disimpan selama 1 jam pada suhu ruang untuk menentukan konsentrasi berat optimum. Stabilitas EO-AgNPs diamati dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

### **III.2.3 Pengaruh Penambahan Tween 80 Terhadap Stabilitas EO-AgNPs**

Sintesis EO-AgNPs dilakukan dengan memvariasi konsentrasi berat perak nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 dan 1,0 mM Masing-masing dilakukan dengan mencampurkan secara langsung ke minyak atsiri biji pala dalam gelas beker 25 mL. Kemudian ditambahkan surfaktan 1 mL Tween-80 dan diaduk hingga homogen. Larutan yang sudah homogen disimpan selama 1 jam pada suhu ruang. Stabilitas terbentuknya EO-AgNPs dianalisis menggunakan spektrofotometer Uv-Vis.

### **III.3 Karakterisasi Sintesis Nanopartikel Perak**

Bahan EO-AgNPs yang diperoleh dikarakterisasi menggunakan beberapa alat analisis. Analisis nilai serapan maksimum dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 380-800 nm menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis Hitachi UH 5300. Analisis menggunakan *Fourier-Transform Infrared Spectroscopy* (FT-IR) Perkin Elmer Spectrum Versi 10.5.1 untuk mengetahui gugus fungsi yang dapat mengindikasikan nanopartikel perak. Kemudian penentuan distribusi ukuran partikel, polidispersi index dianalisis menggunakan *Pore Size Analyzer* (PSA) Horiba SZ-100, Japan serta analisis morfologi permukaan dan kandungan unsur bahan dianalisis menggunakan *Scanning Electron Microscope-Energy Dispersive X-Ray* (SEM-EDX) (Phenom World).

### **III.4 Aplikasi EO-AgNPs Skala Lapangan**

Sebelum aplikasi, dilakukan observasi lapangan terlebih dahulu untuk menentukan batu yang digunakan sebagai objek penelitian. Pengujian daya hambat *lichen* pada skala lapangan dilakukan dengan metode spray. EO-AgNPs dimasukkan ke dalam botol semprot, kemudian disemprotkan pada lumut kerak (*lichen*) yang tumbuh

pada permukaan batuan. Setelah penyemprotan, pengamatan visual dengan difoto dan handy microscop dengan rentang waktu pengamatan 24, 48, 72, 240, 312 jam.

### **III.5 Aplikasi EO-AgNPs Skala Laboratorium**

#### **III.5.1 Sterilisasi Alat**

Alat yang akan di gunakan disterilkan terlebih dahulu, tujuan mensterilkan alat yaitu untuk menghindari kontaminasi. Di cuci dan dibersihkan semua alat dengan disemprot alkohol 70% kemudian di bungkus dengan kertas dan di oven pada suhu 180°C selama 1 jam.

#### **III.5.2 Pembuatan Medium Agar**

Medium yang digunakan untuk spesifik *lichen* pada penelitian ini yaitu *Potato Dextrose Agar* (PDA). Ditimbang media PDA sebanyak 19,5gram dilarutkan dengan aquades dalam Erlenmeyer 500 mL dan dipanaskan. Setelah agar larut sterilisasi media menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 1,5-2 jam. Media steril dipindahkan ke cawan petri dan disimpan pada suhu ruang hingga media padat.

#### **III.5.3 Sampling *Lichen***

*Lichen* di kerok dari batuan candi menggunakan scffel dan dimasukkan dalam *microtube* steril untuk menghindari kontaminasi selanjutnya sampel di cuci menggunakan larutan garam (NaCL) 0,9% dan disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 1000 rpm untuk memisahkan lichen dari pengotornya.

#### **III.5.4 Isolasi *Lichen***

Dilakukan isolasi *lichen* menggunakan media steril. Kawat ose dibakar terlebih dahulu, kemudian sampel *lichen* diambil menggunakan ose dan ditanam dalam media agar steril. Setelah ditanam, cawan petri ditutup menggunakan plastic wrap dan diinkubasi selama 3-5 hari. Setelah inkubasi, dipilih jamur sebagai *lichen* dan dipisahkan menggunakan metode geser untuk memisahkan sel-sel jamur. Diinokulasi *lichen* yang diperoleh (ditanam pada media baru yang steril) dan memperbanyak *lichen* untuk stok pengujian menggunakan nanopartikel perak.

### **III.5.5 Uji Efektivitas Larutan EO-AgNPs terhadap *Lichen***

Media agar steril dan *lichen* yang diperoleh dari proses isolasi selanjutnya dilakukan uji efektifitas daya hambat dengan memberi kertas saring berukuran kecil yang sudah direndam dengan larutan nanopartikel perak dan diletakaan pada permukaan media yang ditanam *lichen*. kemudian di inkubasi pada suhu 27°C selama 48 jam selanjutnya di ukur daya hambat dengan menggunakan alat scan 500 yaitu penghitung koloni secara otomatis dan di dapatkan diameter zona hambat pada koloni *lichen*.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHAS

#### IV.1 Parameter mutu minyak atsiri biji pala

Sifat fisik minyak atsiri biji pala yang diamati antara lain warna, aroma indeks bias dan kandungan myristicin telah sesuai dengan Standarisasi Nasional Indonesia (SNI). Tabel 4. Menunjukkan hasil pengujian dengan minyak atsiri biji pala berwarna kuning pucat, beraroma khas minyak pala sesuai dengan standar mutu minyak pala yang berlaku di Indonesia saat ini adalah SNI 06-2388-2006. Kualitas minyak atsiri biji pala ditentukan oleh tingkat miristisin, yang setidaknya 10%. Faktor penentu kualitas minyak pala ditentukan oleh kandungan miristisin karena memberikan aroma khas minyak pala yang paling kuat (Tan et al., 2013). Biji pala mengandung minyak atsiri sekitar 2-16% dengan rata-rata pada 10% dan fixed oil (minyak lemak) sekitar 25-40%, karbohidrat sekitar 30% dan protein sekitar 6%.

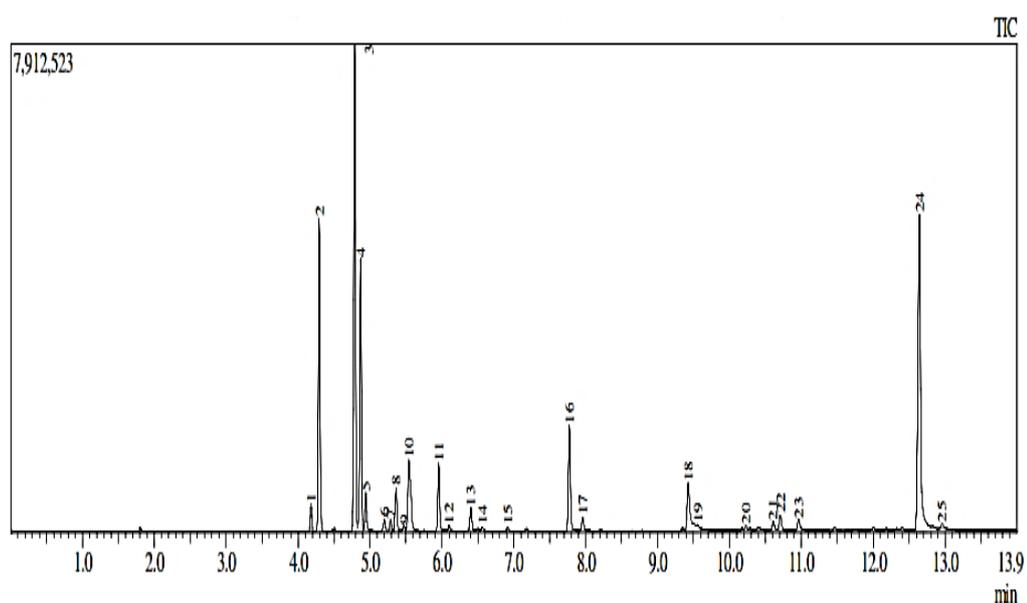
**Tabel 4. Sifat Fisik Minyak atsiri biji pala**

Parameter Uji	Standar SNI	Hasil Uji	Keterangan
Warna	Tidak berwarna atau kuning pucat	Kuning pucat	Sesuai standar
Aroma	khas minyak pala	khas minyak pala	Sesuai standar
Indeks bias	1,470-1,497	1,4781	Sesuai standar

Indeks bias suatu zat adalah perbandingan kecepatan cahaya dalam udara dengan kecepatan cahaya dalam zat tersebut. Penentuan indeks bias menggunakan alat Refraktometer. Prinsip penggunaan alat adalah penyinaran yang menembus dua macam media dengan kerapatan yang berbeda, kemudian terjadi pembiasan (perubahan arah sinar) akibat perbedaan kerapatan media. Indeks bias berguna untuk identifikasi suatu zat dan deteksi ketidakmurnian (Guenther, 1987). Indeks bias yang dihasilkan dari minyak atsiri bunga lawang adalah 1.4781. Semakin banyak kandungan air minyak atsiri, maka semakin kecil nilai indek biasnya. Ini karena sifat dari air yang mudah untuk membiaskan cahaya.

Jadi minyak atsiri dengan nilai indeks bias yang besar lebih baik dibandingkan dengan minyak atsiri dengan nilai indeks bias yang kecil.

Analisis senyawa kimia minyak atsiri biji pala di lakukan dengan GC-MS. Prinsip kerja GC adalah memisahkan komponen berdasarkan perbedaan titik didihnya. Masing-masing senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri biji pala mempunyai titik didih dan kepolaran yang berbeda-beda sehingga berpengaruh terhadap kromatogram ion total yang dihasilkan. Senyawa dengan titik didih rendah akan mudah menguap dan akan mempunyai waktu pendiaman retensi yang lebih cepat dibandingkan dengan senyawa yang memiliki titik didih tinggi (Ahuja 2003). Hasil analisis GC-MS disajikan dalam bentuk kromatogram ion total hasil dari hubungan waktu pendiaman retensi terhadap intensitas. Setiap puncak yang muncul dalam kromatogram ion total diidentifikasi berdasarkan hasil analisis spektrum massa yang terdapat pada *library index* MS. Hasil kromatogram minyak atsiri biji pala dapat ditunjukkan pada Gambar 15 dan Senyawa dalam minyak atsiri biji pala dilihat pada Tabel 5. Hasil analisis MS (Gambar 15) menunjukkan minyak atsiri biji pala ditemukan 25 komponen senyawa utama dengan lima puncak tertinggi yaitu Sabinene, myristicin, alpha pinene, beta pinene, alpha terpineol dengan masing-masing waktu retensi 4,789, 12,643, 4,296, 4,868, 7,775.



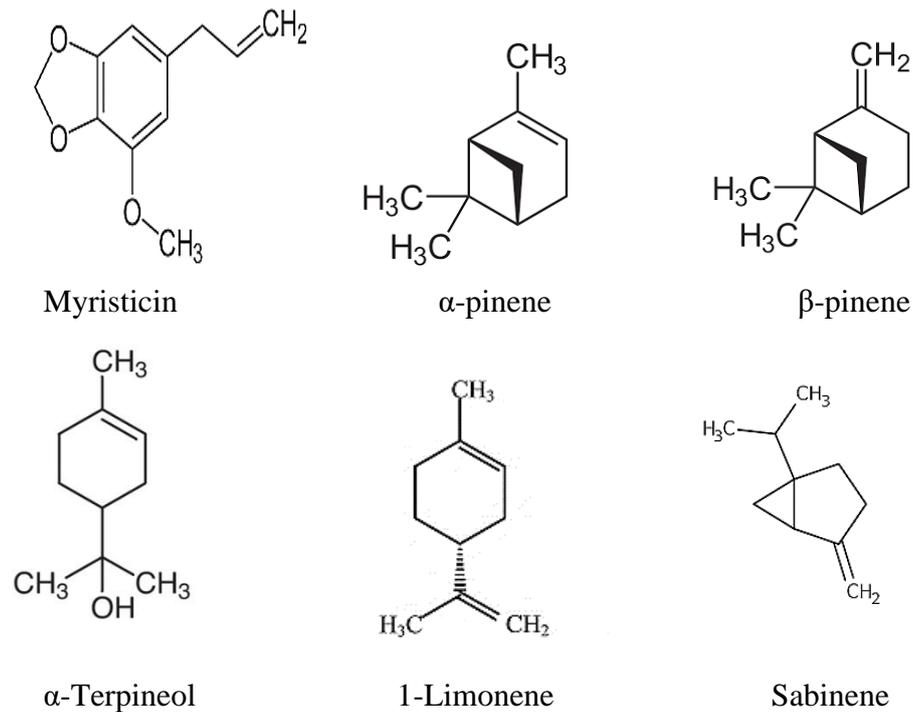
**Gambar 15. Hasil kromatogram analisis minyak atsiri biji pala**

**Tabel 5. Komponen senyawa dalam minyak atsiri biji pala**

No	Komponen Senyawa	RT	%Area
1	Sabinene	4,789	22,51
2	Myristcin	12,643	22,34
3	Alpha Pinene	4,296	13,28
4	Beta Pinene	4,868	12,07
5	Alpha terpineol	7,775	5,56
6	1-Limonen	5,539	5,24
7	1,3-Benzodioxole	9,427	3,79
8	Gamma-Terpinene	5,955	3,29
9	Alpha Terpinene	5,362	2,00
10	Beta-Myrcene	4,942	1,72
11	Alpha-Terpinolene	6,402	1,24
12	Alpha-Thjune	4.180	1,12
13	Alpha Copaene	10,71	0,83
14	Methyl Eugenol	10,959	0,73
15	3-Cyclohexen	7,959	0,71
16	1-Phellandrene	5,198	0,58
17	Nerylacetate	10,608	0,56
18	Delta 3-Carene	5,287	0,52
19	Cis-Asarone	12,958	0,38
20	Cis-Sabinenehydrate	6,098	0,28
21	Isopropyltoluene	5,472	0,27
22	Alpha-Terpinenylacetate	10,23	0,27
25	1-methoxy-4-pentyl	9,565	0,26
24	Trans-sabinene hydrate	6,564	0,22
25	p-menth-2-1-ol	6,914	0,22

Perbedaan jumlah kandungan senyawa pada tumbuhan dipengaruhi oleh faktor geografis dan lingkungan. Faktor lingkungan seperti iklim, hama, penyakit tanaman dan polusi berpengaruh pada kandungan senyawa dalam tumbuhan. Sedangkan faktor geografis yaitu tanah, intensitas cahaya, kandungan nutrisi dalam tanah dan ketinggian tempat tumbuh) berperan penting sehingga faktor-faktor tersebut mempengaruhi kandungan senyawa yang terdapat pada tumbuhan yang dihasilkan (Bermawiee et al.,2015). Dilaporkan oleh (Sivasothy,et al.,2011) bahwa perbedaan jumlah kandungan senyawa pada tumbuhan dapat terjadi karena perbedaan umur panen, penyimpanan dan letak geografis wilayah yang menghasilkan tumbuhan tersebut. Myristicin termasuk senyawa alam yang menarik

karena memiliki gugus fungsi alil, fenil, dan eter. Gugus alil dapat diubah secara kimia menjadi senyawa turunannya melalui reaksi adisi, hidrasi, isomerisasi, dan oksidasi (Jatika et al., 2009). Gambar 16 menunjukkan struktur kimia komponen senyawa utama yang terkandung dalam minyak atsiri biji pala.



**Gambar 16. Struktur senyawa kimia dalam minyak atsiri biji pala**

#### IV.2 Sintesis EO-AgNPs menggunakan minyak atsiri biji pala

Sintesis nanopartikel perak (AgNPs) dalam penelitian ini menggunakan metode *green synthesis* karena metode ini memiliki langkah kerja yang mudah, cepat, murah, ramah lingkungan, relative sederhana dan efektif menghasilkan AgNPs. Metode *green synthesis* menggunakan bahan-bahan alami sebagai bioreduktor. Bahan-bahan organik yang mengandung gugus karboksil dan senyawa flavonoid dapat berperan mereduksi logam (Abou El-Nour et al., 2010). Hasil uji fitokimia (Rachmi et al., 2014) biji pala mengandung senyawa fenol, terpenoid dan flavonoid. Flavonoid merupakan golongan senyawa terbesar dari senyawa fenol,

senyawa fenol mempunyai sifat yang efektif menghambat pertumbuhan jamur, bakteri dan virus (Isromarina et al., 2020).

Secara umum terdapat tiga kompoenen penting dalam sintesis AgNPs yaitu reduktor, prekursor (logam) dan agen penstabil. Prekursor (logam) yang digunakan dalam penelitian ini adalah perak nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ), untuk mengubah  $\text{Ag}^+$  menjadi  $\text{Ag}^0$  diperlukan proses reduksi dari reduktor yang digunakan dengan menerima elektron dari proton. Reduktor yang digunakan minyak atsiri biji pala. Minyak atsiri biji pala adalah cairan tidak berwarna atau kuning pucat dengan bau khas pala yang mengandung bahan aktif kimia berfungsi sebagai mereduksi ion perak untuk menghasilkan EO-AgNPs.

Hasil sintesis EO-AgNPs ditunjukkan pada Gambar 17, dengan konsentrasi prekursor 10 mM dan reduktor 10 mL. Pembentukan EO-AgNPs dapat diamati secara visual dari perubahan warna setelah 24 jam. EO-100% mula-mula berwarna kuning bening setelah 24 jam terjadi perubahan warna menjadi coklat tua. Terjadinya perubahan warna mengindikasikan bahwa proses reduksi antara  $\text{AgNO}_3$  dan minyak atsiri biji pala telah berlangsung dan nanopartikel perak telah terbentuk. Proses ini terjadi karena adanya transfer elektron dari zat pereduksi menuju ion logam.



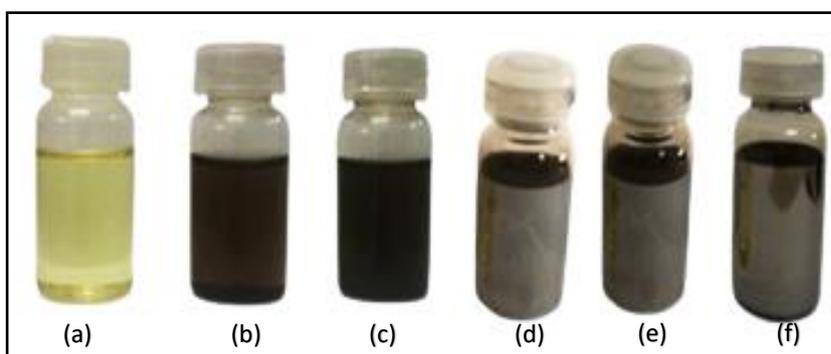
**Gambar 17. Sintesis EO-AgNPs secara langsung**

Pada penelitian ini, dilakukan beberapa parameter uji diantaranya pengaruh waktu penyimpanan untuk mengetahui kestabilan dari EO-AgNPs, variasi konsentrasi  $\text{AgNO}_3$ , pengaruh penggunaan surfaktan tween 80 dan ko-surfaktan polietilen glikol (PEG) 400 dengan  $\text{AgNO}_3$  terhadap pembentukan dan stabilitas

EO-AgNPs. Selanjutnya masing-masing parameter dari sintesis nanopartikel perak dikarakterisasi menggunakan UV-Vis, FT-IR, PSA dan SEM-EDX.

#### IV.2.1 Variasi waktu penyimpanan terhadap kestabilan EO-AgNPs.

Pengamatan variasi waktu penyimpanan dilakukan setiap 24 jam selama 9 hari. Pengamatan secara visual pengaruh waktu penyimpanan terhadap EO-AgNPs, terjadinya perubahan warna dari mula-mula berwarna kuning pucat menjadi cokelat tua ditunjukkan pada Gambar 18. Perubahan warna cokelat pada hari ke 1, cokelat tua hari ke 3 sedangkan hari ke 5, 7, dan 9 berwarna cokelat tua dengan adanya lapisan mengkilat khas perak yang menempel pada permukaan botol sampel, hal ini disebabkan semakin lama waktu penyimpanan maka perak nitrat akan cenderung mengalami aglomerasi dan menempel pada permukaan botol sampel. Warna yang khas dari larutan nanopartikel perak disebabkan karena adanya resonansi plasmon pada permukaan perak, warna yang di hasilkan pada setiap sampel menunjukkan adanya pengaruh zat pereduksi yang di gunakan.

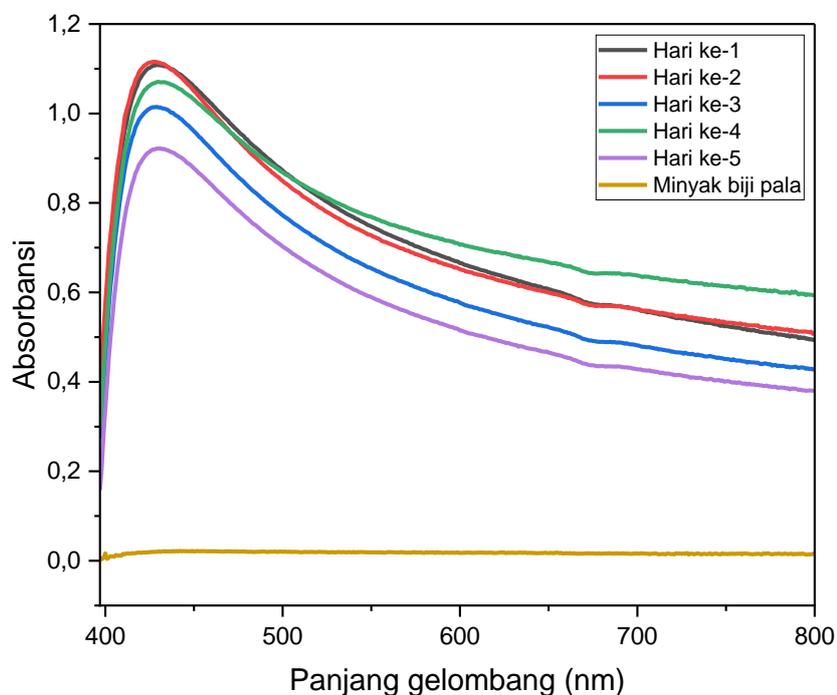


**Gambar 18. Pengamatan visual EO-AgNPs yang disimpan (a) minyak atsiri biji pala, (b) 1, (c) 3, (d) 5, (e) 7 dan (f) 9 hari**

Terbentuknya nanopartikel perak tidak hanya dilihat dari perubahan warna larutan tetapi juga bisa dilihat dari munculnya  $\lambda_{maks}$  di kisaran 400-450 nm yang merupakan khas nanopartikel perak (Salomon et al., 2007). Dalam penelitian ini pengukuran dilakukan pada rentang panjang gelombang 380-800 nm. Dilakukan pengukuran spektrum serapan menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui kestabilan koloid nanopartikel perak berdasarkan waktu penyimpanan. Kestabilan larutan koloid nanopartikel perak dapat diketahui dari terjadinya

perubahan puncak serapannya. Dari hasil spektra menunjukkan bahwa dari hari ke 1-9 (Gambar 19) nanopartikel perak telah terbentuk dengan munculnya puncak karakteristik dari nanopartikel perak dan terjadinya proses reduksi antara  $\text{Ag}^+$  menjadi  $\text{Ag}^0$  dalam fase cair. Puncak karakteristik yang muncul pada hari ke 1; 3; 5; 7 dan 9 pada 427 nm, 429 nm, 429 nm, 430 nm, 431 nm dengan absorbansi 1,115; 1,108; 0,101; 1,070; 0,921.

Gambar 19 menunjukkan pergeseran puncak serapan tidak signifikan yang berarti koloid nanopartikel perak cenderung stabil. Pergeseran panjang gelombang yang meningkat disebabkan oleh perubahan resonansi plasmon permukaan AgNPs. Perubahan ini ditandai dengan pelebaran puncak karena proses reduksi yang lambat. Kestabilan koloid nanopartikel perak hasil sintesis diketahui melalui pengukuran menggunakan spektrofotometer dengan terjadinya perubahan puncak serapan. (Mohammed, 2015) Jika terjadi pergeseran puncak serapan ke panjang gelombang yang lebih besar menunjukkan bahwa kestabilan koloid nanopartikel perak masih rendah (Wahyudi et al., 2011).



**Gambar 19. Spektra UV-VIS AgNPs dengan variasi waktu pendiaman**

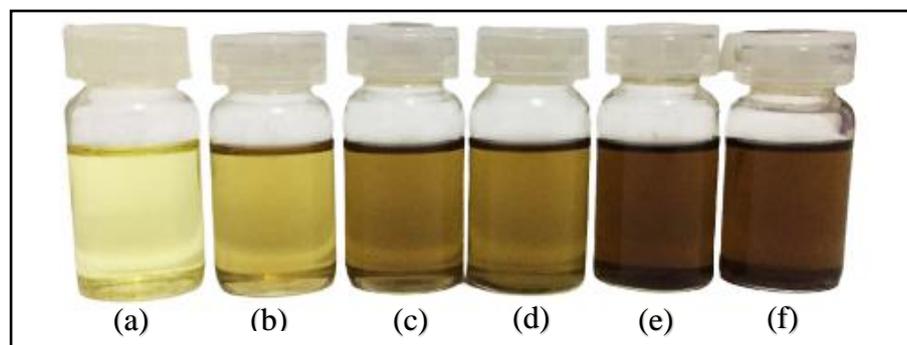
**Tabel 6. Serapan maksimum waktu penyimpanan EO-AgNPs**

Lama waktu penyimpanan (hari)	$\lambda_{\max}$ (nm)	Absorbansi
1	427	1,115
3	429	1,108
5	429	0,101
7	430	1,070
9	431	0,921

Tabel 6, menunjukkan adanya pergeseran panjang gelombang yang tidak signifikan berkisar antara 427-431 nm seiring bertambahnya waktu penyimpanan EO-AgNPs. Sehingga dapat disimpulkan semakin lama waktu penyimpanan EO-AgNPs maka larutan nanopartikel perak semakin stabil. Nilai absorbansi menunjukkan banyaknya nanopartikel perak yang terbentuk dalam larutan EO-AgNPs.

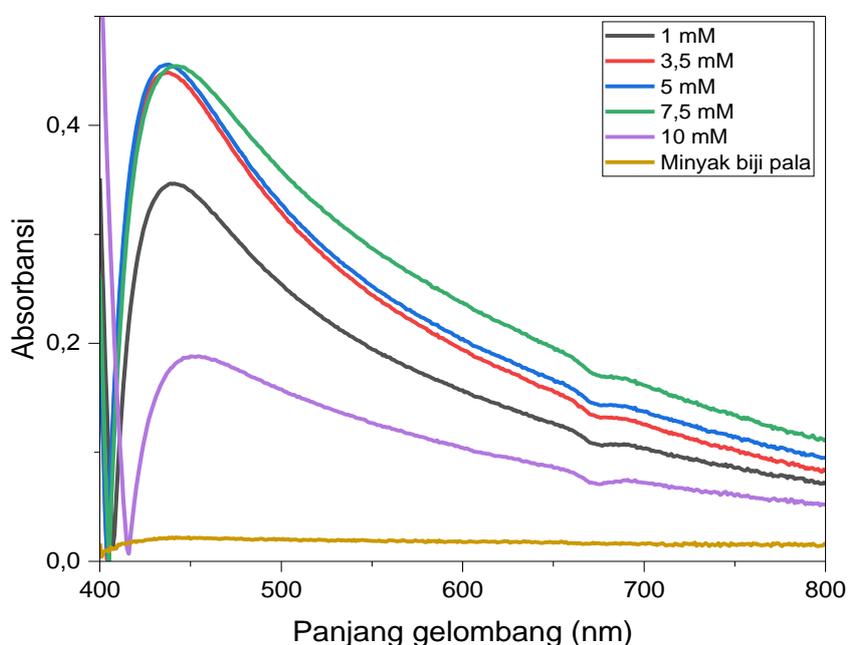
### V.2.2 Variasi konsentrasi $\text{AgNO}_3$ terhadap pembentukan EO-AgNPs

Sintesis nanopartikel perak dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi dari perak nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) yaitu 1 mM; 3,5 mM; 5 mM; 7,5 mM dan 10 mM. Dilakukan pengamatan perubahan warna secara visual pembentukan nanopartikel perak yang dihasilkan ditunjukkan pada Gambar 20, (a) EO-100% berwarna kuning pucat, 1 mM menjadi coklat bening dan 3,5 mM, 5 mM, 7,5 mM dan 10 mM menjadi coklat tua. Jumlah nanopartikel meningkat seiring meningkatnya konsentrasi prekursor maka semakin tinggi konsentrasi prekursor warna larutan yang dihasilkan semakin gelap karena proses terjadinya reduksi semakin cepat.



**Gambar 20. Pengamatan secara visual variasi konsentrasi  $\text{AgNO}_3$ , (a) minyak biji pala (b) 1, (c) 3,5, (d) 5 (e) 7,5 dan (f) 10 mM**

Berdasarkan hasil analisis yang ditunjukkan pada Gambar 21. Intensitas absorbansi meningkat seiring bertambahnya konsentrasi  $\text{AgNO}_3$  yang menandakan kecepatan waktu reduksi meningkat dengan kenaikan konsentrasi prekursor. Konsentrasi  $\text{AgNO}_3$  mempengaruhi pembentukan nanopartikel perak. Kenaikan konsentrasi menyebabkan adanya pelebaran dan pergeseran puncak pada konsentrasi  $\text{AgNO}_3$  7,5 dan 10 mM. Dari Hasil analisis (Gambar 21) dapat disimpulkan semakin tinggi konsentrasi  $\text{AgNO}_3$  maka semakin tinggi absorbansinya. Secara kualitatif semakin tinggi nilai absorbansi, maka pembentukan nanopartikel perak dalam larutan semakin meningkat.



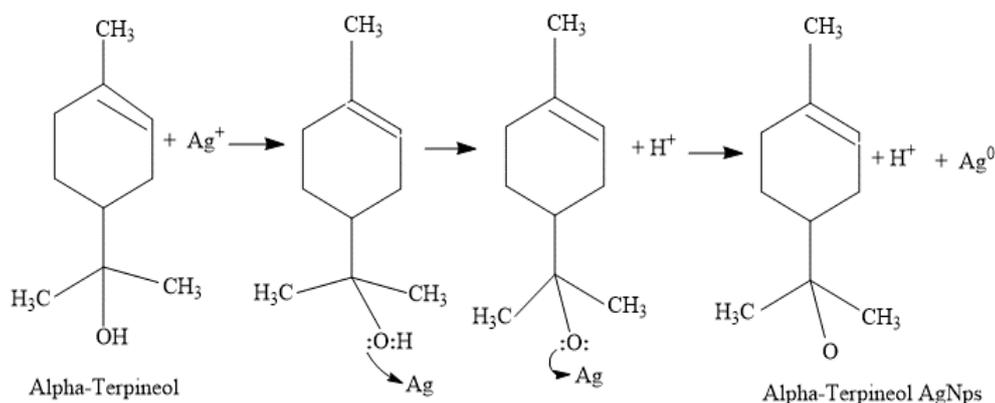
**Gambar 21. Spektra UV-Vis dengan variasi konsentrasi  $\text{AgNO}_3$**

Hasil analisis EO-AgNPs dengan berbagai penambahan konsentrasi  $\text{AgNO}_3$  (gram) menggunakan UV-Vis, dilakukan setelah 1 jam pencampuran awal. Pada konsentrasi 1; 3,5; 5; 7,5 dan 10 mM adanya serapan puncak pada panjang gelombang maksimum 430, 438, 438, 442 dan 450 nm dan absorbansi masing masing 0,346; 0,448; 0,455; 1,454; dan 0,188. Terbentuknya nanopartikel perak tidak hanya dilihat dari perubahan warna larutan tetapi juga bisa dilihat dari munculnya  $\lambda_{\text{maks}}$  di kisaran 400-450 nm yang merupakan khas nanopartikel perak (Salomon et al., 2007).

Tabel 7 menunjukkan, pergeseran puncak serapan ke panjang gelombang yang lebih besar menunjukkan bahwa kestabilan nanopartikel perak masih rendah dikarenakan telah terjadi peristiwa aglomerasi (Wahyudi et al. 2011).

**Tabel 7. Serapan maksimum AgNO<sub>3</sub> terhadap EO-AgNPs**

Konsentrasi AgNO <sub>3</sub> (mM)	$\lambda_{\max}$ (nm)	Absorbansi
1	430	0,346
3,5	438	0,448
5	438	0,455
7,5	442	1,454
10	450	0,188



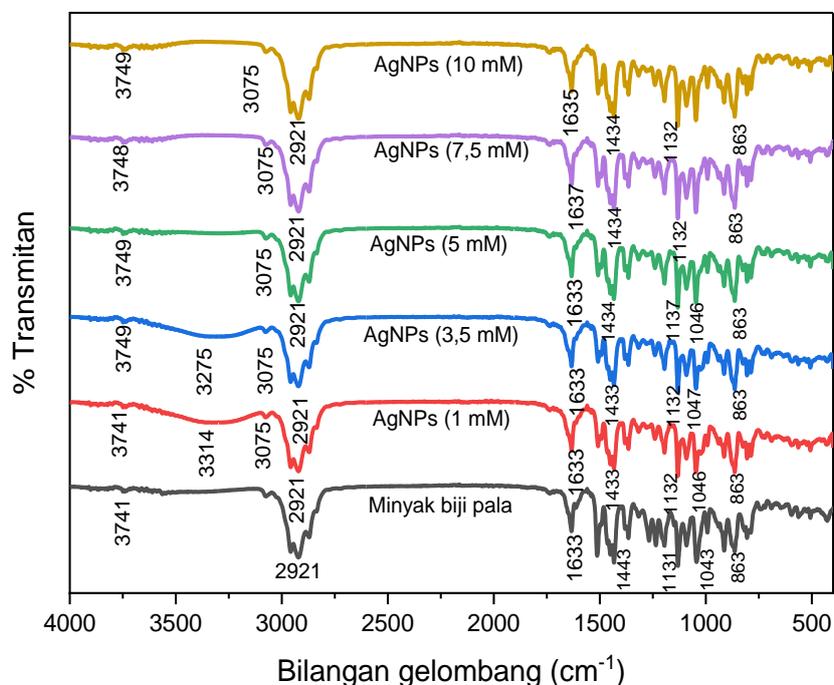
**Gambar 22. Prediksi persamaan reaksi pembentukan nanopartikel perak**

Gambar 22 merupakan persamaan reaksi AgNPs. Gugus fungsi OH dari alpha terpeneol diprediksi mampu mereduksi logam Ag, gugus O yang memiliki pasangan elektron dapat mereduksi logam Ag<sup>+</sup> menjadi Ag<sup>0</sup>.

Setelah dikonfirmasi menggunakan UV-Vis selanjutnya larutan EO-AgNPs di karakterisasi dengan FTIR. Gugus fungsi dalam minyak atsiri seperti C=C, -CH<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub>, -OH, CH, C=O, COC, CH<sub>3</sub>-C-CH<sub>3</sub>, CO, dan -CN. Gugus fungsi dalam minyak atsiri digunakan untuk reduksi ion perak Ag<sup>+</sup> menjadi perak Ag<sup>0</sup> (Sana et al., 2021). Spektrofotometer inframerah (FT-IR) digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi yang terlibat dalam pembentukan EO-AgNPs dengan pengukuran pada bilangan gelombang 4000-400 cm<sup>-1</sup>. Spektrum pengaruh variasi konsentrasi

AgNO<sub>3</sub> terhadap pembentukan dan stabilitas nanopartikel perak ditunjukkan pada Gambar 23.

Gambar 23 merupakan hasil spektrum FTIR dengan variasi konsentrasi perak nitrat. Muncul puncak karakteristik AgNPs dari serapan 3275 dan 3314 cm<sup>-1</sup> terdeteksi sebagai vibrasi regangan gugus OH, yang berasal dari senyawa flavonoid dan fenolik minyak atsiri biji pala, gugus fungsi tersebut diasumsikan mereduksi ion logam Ag dalam nanopartikel. Pada konsentrasi 5 mM, 7,5 mM dan 10 mM menunjukkan gugus OH tidak terdeteksi, hal ini disebabkan semakin tinggi konsentrasi perak nitrat maka jumlah partikel dalam larutan akan semakin meningkat sehingga perak nitrat akan menempel pada permukaan botol sampel dan menyebabkan gugus OH tidak terdeteksi. Puncak 3075 cm<sup>-1</sup> menunjukkan adanya vibrasi =C-H dan getaran ulur CH<sub>2</sub> pada serapan 2921 cm<sup>-1</sup> sedangkan puncak serapan 1633 cm<sup>-1</sup> sebagai getaran peregangan C=C aromatik, puncak pada 1433 cm<sup>-1</sup> dan 1437 cm<sup>-1</sup> disebabkan oleh vibrasi tekuk asimetris C-H<sub>3</sub>. pada serapan, serapan 1132 cm<sup>-1</sup> sebagai vibrasi tekuk C-H dan Puncak C-O muncul pada 1043 cm<sup>-1</sup> dan 1047 cm<sup>-1</sup> (vibrasi regangan asimetris) C-O alkohol dari gugus ester.



**Gambar 23. Spektrum FTIR dengan variasi konsentrasi AgNO<sub>3</sub>**

**Tabel 8. Interpretasi spektrum FTIR terhadap variasi konsentrasi AgNO<sub>3</sub>**

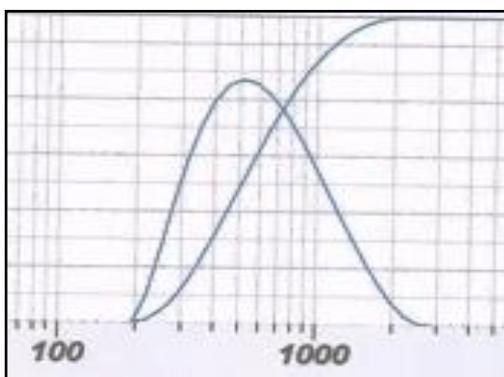
<b>Bilangan Gelombang (cm<sup>-1</sup>)</b>						
<b>Konsentrasi AgNO<sub>3</sub> (mM) terhadap EO-AgNPs</b>						
<b>Minyak biji pala</b>	<b>1,0</b>	<b>3,5</b>	<b>5,0</b>	<b>7,5</b>	<b>10</b>	<b>Gugus Fungsi</b>
3741	3671	3749	3749	3748	3749	OH
2921	2921	2921	2921	2921	2921	CH <sub>2</sub>
1633	1633	1633	1633	1637	1635	C=O
1443	1433	1434	1433	1434	1434	CH <sub>3</sub>
1043	1046	1047	1046	1046	1046	C-O

Berdasarkan hasil interpretasi spektra infra merah disajikan pada Tabel 4.1, adanya pergeseran bilangan gelombang yang terjadi meskipun tidak signifikan pada EO-100% sebelum disintesis dengan masing-masing konsentrasi EO-AgNPs. Hal ini menandakan adanya interaksi antara gugus OH yang berperan mereduksi ion logam Ag dalam larutan nanopartikel perak pada bilangan gelombang 3275-3314 cm<sup>-1</sup>.

Nanopartikel perak dikarakterisasi menggunakan PSA bertujuan untuk mengetahui distribusi ukuran partikel. Homogenitas suatu larutan yang dianalisis dengan PSA juga dapat diketahui dari polidispersi indeks (PI) yang memiliki range 0-1. Dimana nilai yang mendekati 0 menandakan disperse yang homogen sedangkan nilai yang lebih besar dari 0,5 mengindikasikan disperse yang terjadi secara heterogen (Avadi et al., 2010). (Wang Wei et al., 2008) melaporkan nilai polidispersitas menunjukkan penyebaran distribusi ukuran partikel. Semakin kecil nilai polidispersitas indeks menunjukkan distribusi ukuran partikel yang semakin kecil. Prinsip kerja PSA menggunakan hamburan cahaya dinamis untuk mengetahui distribusi ukuran partikel dari larutan nanopartikel perak (EO-AgNPs) dengan metode uji *dynamic light scattering* yang mengalami gerak Brown. Metode ini dianggap lebih akurat dibandingkan metode analisis gambar seperti SEM dan TEM karena menggunakan sinar laser sebagai media untuk mengukur informasi objek (partikel). Selain itu, waktu pengukuran lebih cepat karena cahaya memiliki

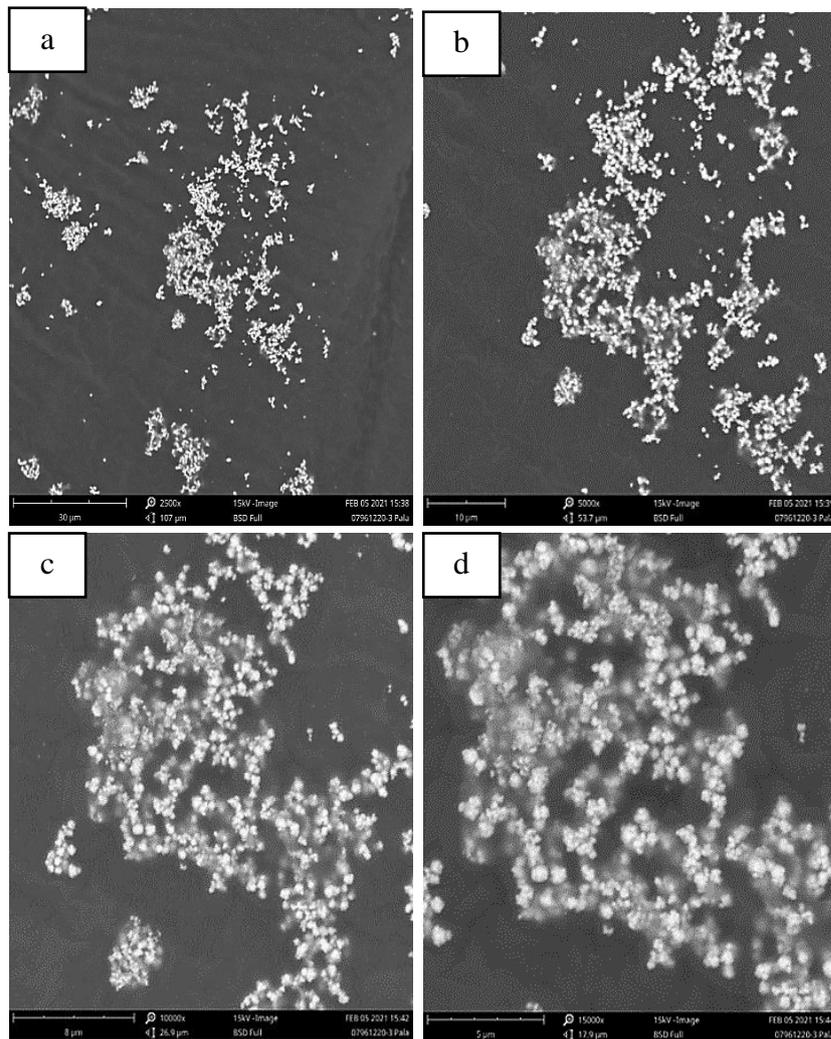
kecepatan yang tinggi, sehingga dapat mengirimkan informasi dalam waktu yang sangat singkat.

Nanopartikel didefinisikan sebagai partikel dengan ukuran 1-1000 nm (Mohanraj & Chen, 2007). Berdasarkan hasil analisis menggunakan PSA ditunjukkan pada Gambar 24, ukuran partikel yang dihasilkan sebesar 454,8 nm dengan menghasilkan satu puncak, hal ini berarti ukuran partikel tersebut masuk dalam range nanopartikel karena <1000 nm dan nilai PI 0,499 yang berarti < 0,5, hal ini mengindikasikan EO-AgNPs terdispersi secara homogen.



**Gambar 24. Distribusi ukuran partikel EO-AgNPs 10 mM AgNO**

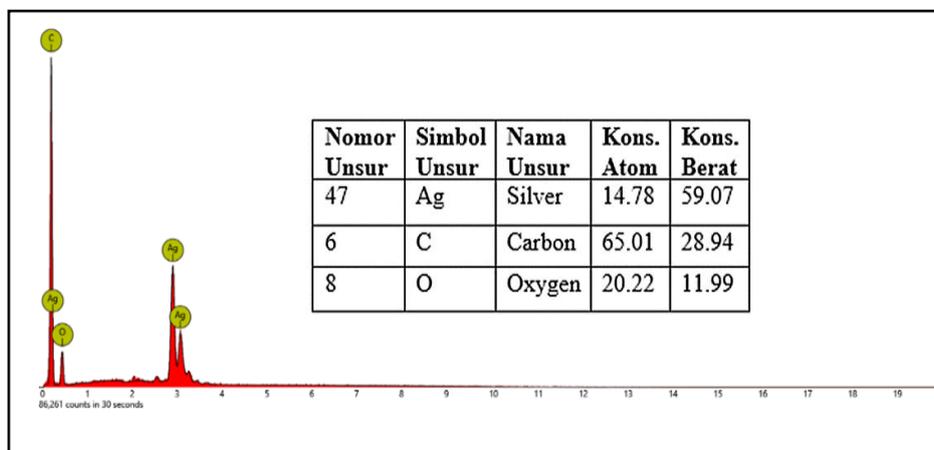
Keseragaman ukuran partikel juga didukung oleh data SEM yang ditunjukkan pada Gambar 25. Analisis SEM bertujuan untuk mengetahui morfologi permukaan nanopartikel perak. Dalam penelitian ini dilakukan preparasi sampel nanopartikel perak dengan meneteskan bahan uji nanopartikel perak 2 tetes pada carbon tape sampai permukaan tertutup penuh dengan bahan uji, kemudian carbon tape dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C selama  $\pm 1$  jam. Setelah sampel kering selanjutnya akan di baca menggunakan SEM dan dilakukan pembacaan spektrum kandungan atom dan persebaran (*mapping*) atom dalam nanopartikel perak menggunakan EDX.



**Gambar 25. Morfologi Sintesis EO-AgNPs dengan perbesaran a) 2500, b) 5000, c) 10000 dan d) 15000x**

Perbesaran gambar nanopartikel perak dilakukan pada skala 2500, 5000, 10.000 dan 15000x. Pada penelitian ini morfologi nanopartikel perak yang terlihat berbentuk bulat dan tidak seragam, seperti ditunjukkan pada Gambar 25. Bentuk morfologi nanopartikel perak sebagian besar berbentuk bulat (Sharma et al., 2014). Hasil SEM pada perbesaran (a) 2500x dan (b) 5000x tampak sebagian besar partikel perak tersebar sehingga cukup baik untuk diamati dan diperkirakan bentuk partikel yang mengalami agregasi sehingga menyebabkan ukuran partikel tidak seragam. Pengamatan pada perbesaran (c) 10.000x dan (d) 15000x memperlihatkan morfologi sebaran partikel perak yang lebih jelas. Spektrum EDX ditunjukkan pada Gambar 26, dengan komposisi unsur yang terlibat dalam pembentukan nanopartikel

perak terdiri dari Ag, C, O dengan presentase massa, 59,07%, 28,94% ,11,99%. Unsur C berasal dari kontaminan *carbontape* yang digunakan saat preparasi sampel.

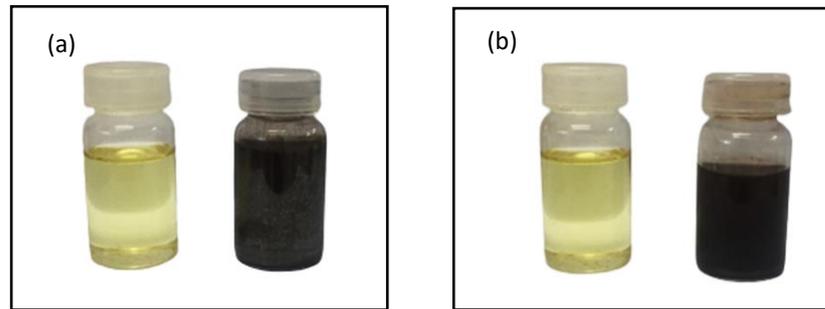


**Gambar 26. Spektra EDX dan unsur EO-AgNPs**

### IV.3 Efek penambahan tween 80 terhadap pembentukan EO-AgNPs

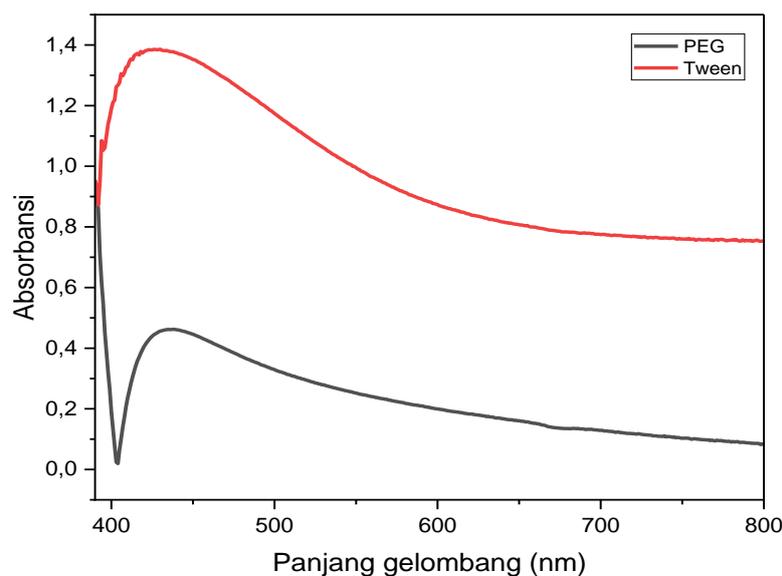
#### IV.3.1 Perbandingan surfaktan tween 80 dan polietilen glikol 400

Parameter penambahan surfaktan dan ko-surfaktan dilakukan karena hasil ukuran partikel masih tinggi pada variasi konsentrasi  $\text{AgNO}_3$ . Sintesis nanopartikel memerlukan langkah tambahan di mana penggunaan surfaktan untuk melapisi permukaannya (Mout et al., 2012). Nanopartikel memiliki kecenderungan untuk beraglomerasi, sehingga stabilisator dalam sintesis nanopartikel berperan penting (Kadam et al., 2015). Pemilihan agen penstabil untuk nanopartikel sangat penting, karena penstabil sering mempengaruhi berbagai sifat nanopartikel, termasuk ukuran, bentuk dan interaksinya dengan pelarut (Ajitha et al., 2016). Penggunaan surfaktan tween dan PEG untuk membantu kelarutan zat terlarut dalam medium dispers dengan meningkatkan fleksibilitas lapisan permukaan partikel (Kadam et al., 2015). Zat penstabil atau surfaktan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tween 80 dan PEG 400, yang tidak beracun berfungsi sebagai agen pengemulsi, pelarut, serta penstabil ukuran partikel. Komposisi organik yang tidak beracun dari zat penstabil dapat meningkatkan laju internalisasi dan retensi nanopartikel (Rodrigues et al., 2013).



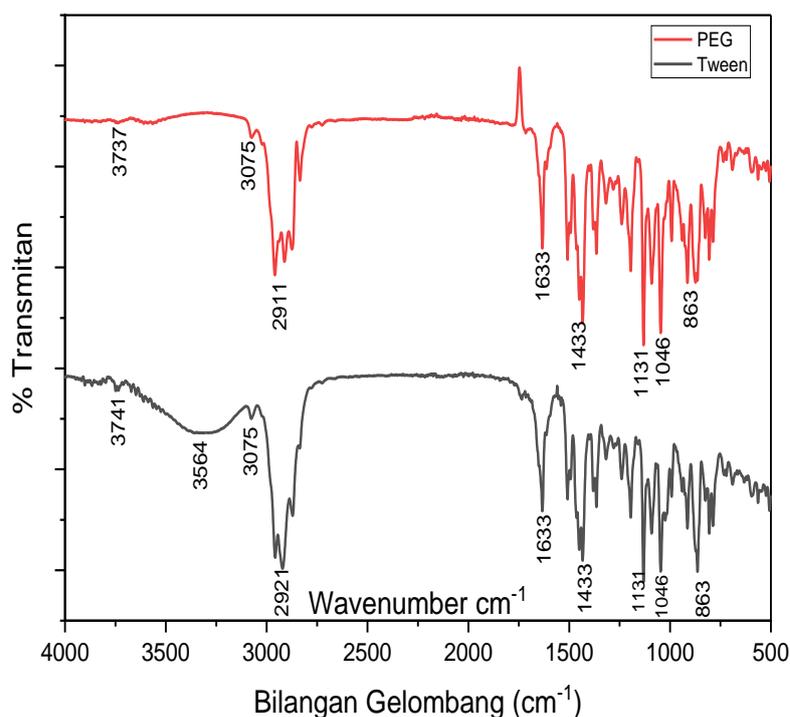
**Gambar 27. Pengamatan visual EO-AgNPs menggunakan (a) PEG 400 dan (b) Tween 80**

Pembentukan EO-AgNPs dilakukan pengamatan secara visual setelah 24 jam. Secara visual hasil pengamatan penambahan surfaktan tween 80 menunjukkan adanya perubahan warna koloid nanopartikel dari kuning bening menjadi cokelat tua dan penambahan ko-surfaktan PEG 400 juga mengalami perubahan warna dari kuning bening menjadi cokelat tua yang ditunjukkan pada Gambar 27. Perubahan warna merupakan indikasi awal pembentukan nanopartikel perak selanjutnya dikonfirmasi dengan analisis UV-Vis. Gambar 28 menunjukkan hasil spektra penambahan tween 80 diperoleh panjang gelombang maksimum 430 nm dengan absorbansi 1,385 sedangkan untuk penambahan PEG 400 diperoleh panjang gelombang 438nm dan absorbansi 0,452.



**Gambar 28. Spektra UV-Vis dari pengaruh penambahan tween 80 dan PEG 400 terhadap EO-AgNPs**

Karakterisasi menggunakan FTIR untuk mengetahui gugus fungsi dalam pembentukan nanopartikel perak menggunakan surfaktan Tween 80 dan ko-surfaktan PEG 400. Perbandingan spektrum FTIR penambahan Tween 80 dan PEG 400 ditunjukkan pada Gambar 29. Muncul beberapa puncak serapan karakteristik dari EO-AgNPs dengan penambahan Tween 80 dan PEG 400 pada bilangan gelombang, 3741 dan 3737  $\text{cm}^{-1}$  terdeteksi sebagai vibrasi regangan gugus OH dari senyawa fenolik dalam minyak atsiri biji pala, puncak karakteristik AgNPs pada bilangan gelombang 3565  $\text{cm}^{-1}$ , getaran ulur  $\text{CH}_2$  muncul pada 2921 dan 2911  $\text{cm}^{-1}$ , 1633  $\text{cm}^{-1}$  terdeteksi sebagai vibrasi regangan  $\text{C}=\text{C}$  aromatik, puncak serapan pada bilangan gelombang 1433 dan 1131  $\text{cm}^{-1}$  adanya vibrasi tekuk  $\text{CH}_3$ , puncak pada 1046  $\text{cm}^{-1}$  mewakili vibrasi regangan  $\text{C}-\text{O}$  alkohol dalam gugus ester.



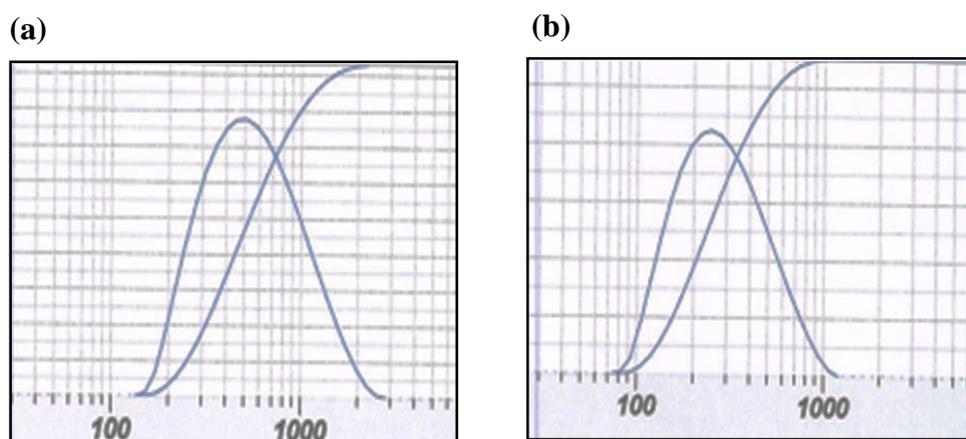
**Gambar 29. Spektra FTIR menggunakan surfaktan Tween 80 dan PEG terhadap EO-AgNPs**

**Tabel 10. Hasil interpretasi spektrum FTIR menggunakan surfaktan dan ko-surfaktan**

Bilangan Gelombang (cm-1)		
Tween 80	PEG 400	Gugus Fungsi
3741	3737	OH
2921	2911	CH <sub>2</sub>
1633	1633	C=C aromatic
1433 dan 1131	1433 dan 1131	CH <sub>3</sub>
1046	1046	C-O alkohol

Berdasarkan hasil interpretasi disajikan pada Tabel 10. Menunjukkan terjadinya pergeseran puncak pada beberapa bilangan gelombang dari tween 80 dan PEG, hal ini mengindikasikan terjadinya interaksi antara surfaktan dan EO-AgNPs.

Hasil analisis uji *Particle Size Analyzer* (PSA) yang bertujuan untuk mengetahui distribusi ukuran dan keseragaman partikel yang terbentuk terhadap EO-AgNPs dengan penambahan surfaktan tween 80 dan ko-surfaktan PEG 400. Nanopartikel didefinisikan sebagai partikel dengan ukuran 1-1000 nm (Mohanraj & Chen, 2007). Berdasarkan hasil analisis menggunakan PSA ditunjukkan pada Gambar 30, ukuran partikel PEG 400 sebesar 406,2 nm dan tween 80 235 nm dengan menghasilkan satu puncak yang menandakan larutan nanopartikel terdispersi secara homogen, hal ini berarti ukuran partikel tersebut masuk dalam range nanopartikel karena <1000 nm.



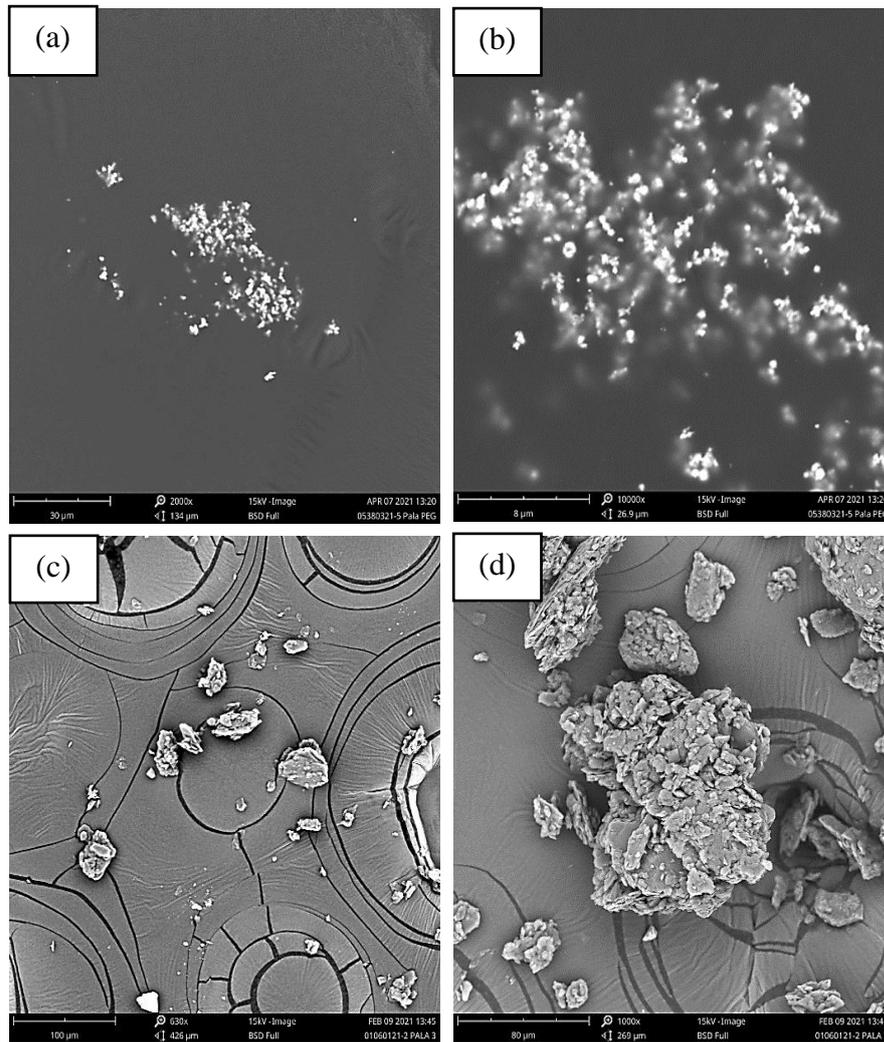
**Gambar 30. Analisis ukuran partikel (a) PEG 400 dan (b) tween 80**

Nanopartikel didefinisikan sebagai partikel dengan ukuran 1-1000 nm (Mohanraj & Chen, 2007). Berdasarkan Tabel 11 hasil uji PSA EO-AgNPs dengan penambahan ko-surfaktan PEG 400 nilai indeks polidispersi 0,417 dan penambahan surfaktan tween 80 diperoleh indeks polidispersi 0,110. Dimana nilai PI dari keduanya <0,5 yang berarti larutan EO-AgNPs terdispersi secara homogen. Semakin kecil nilai polidispersi maka akan semakin seragam ukuran nanopartikel yang dihasilkan (Aprilia,2018). Hasil perbandingan penggunaan surfaktan tween 80 dan PEG 400 dapat disimpulkan bahwa ukuran partikel dan nilai PI tween 80 lebih kecil dan terdispersi secara homogen sehingga surfaktan Tween 80 digunakan sebagai zat penstabil untuk uji parameter selanjutnya.

**Tabel 11. Distribusi ukuran partikel EO-AgNPs dengan penambahan surfaktan**

Surfaktan	Ukuran Partikel (nm)	Nilai PI
PEG 400	406	0,417
Tween 80	235	0,110

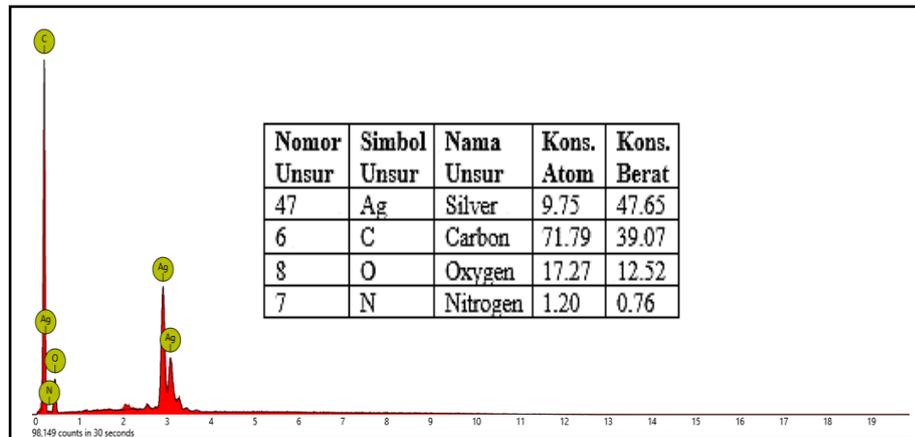
Selain dianalisis menggunakan PSA untuk mengetahui distribusi ukuran partikel selanjutnya dikarakterisasi menggunakan SEM-EDX (*Scanning Elektron Microscope- Energy Dispersive X-Ray*) untuk mengetahui keseragaman dan bentuk morfologi nanopartikel perak. SEM-EDX merupakan gabungan dua jenis instrument yaitu SEM (*Scanning Elektron Microscope*) adalah instrument yang berfungsi untuk mengetahui morfologi dari suatu sampel padatan melalui gambar. Sedangkan EDX (*Energy Dispersive X-Ray*) adalah instrument yang berfungsi untuk menganalisis unsur kimia dari suatu material. Hasil karakterisasi SEM-EDX ditunjukkan pada Gambar 31.



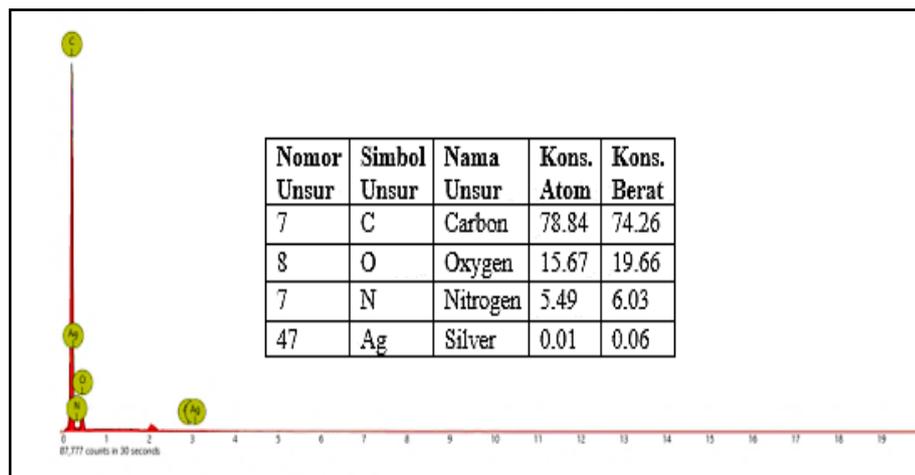
**Gambar 31. Morfologi EO-AgNPs (a) tween-80 perbesaran 2000x, (b) tween 80 perbesaran 10000x (c) PEG-400 perbesaran 630x dan (d) PEG-400 perbesaran 1000x**

Berdasarkan hasil karakterisasi SEM yang dilaporkan pada Gambar 31 (a) dan (b), dengan perbesaran pada skala 2000, 10000x, dan 630, 1000x. Hasil analisis penambahan Tween 80 dan PEG 400 menunjukkan morfologi permukaan nanopartikel perak tidak seragam dan berbentuk bulat dengan ukuran kristal 343 nm dan 38,5  $\mu$ . Hal ini disebabkan gambar kristal AgNPs yang muncul dari hasil pengamatan SEM merupakan larutan AgNPs yang mengalami aglomerasi diantara partikel-partikel Ag sehingga bentuknya tidak seragam (Gunalan et al., 2012). Agregasi nanopartikel menyebabkan pergeseran energi SPR nanopartikel ke tingkat

energi yang lebih rendah yang menyebabkan terjadinya perubahan sifat optik nanopartikel (Saion et al., 2013).



**Gambar 32. Hasil EDX EO-AgNPs dengan penambahan tween-80**

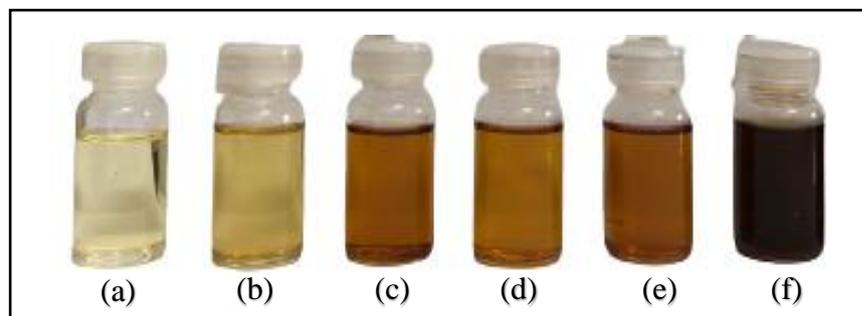


**Gambar 33. Hasil EDX EO-AgNPs dengan penambahan PEG 400**

Analisis presentase elemen dalam sampel EO-AgNPs menggunakan EDX dengan penambahan surfaktan tween 80 dan ko-surfaktan PEG 400 telah dilakukan. Berdasarkan Gambar 32 dan Gambar 33. Dari hasil Gambar 32, beberapa elemen yang terdeteksi diantaranya, Ag, C, O, N dengan presentase 47,65%; 39,07%; 12,52%; dan 0,76% sedangkan Gambar 33 terkandung unsur C, O, N dan Ag dengan presentase 74,26%, 19,66%, 6,03% dan 0,06%. Unsur C yang terdeteksi sebagai pengotor dari kontaminan udara saat proses preparasi sampel berlangsung.

### IV.3.2 Pengaruh penambahan tween 80 terhadap pembentukan dan EO-AgNPs

Diperlukan zat penstabil seperti surfaktan selain fungsinya sebagai pengemulsi dan penstabil juga mencegah terjadinya aglomerasi dan mengontrol ukuran serta bentuk nanopartikel (Dastafkan et al., 2015). Stabilitas, ukuran dan bentuk menentukan pengaplikasinya dalam berbagai bidang. Stabilitas AgNPs memegang peranan yang sangat penting terutama ketika nanopartikel tersebut dikarakterisasi dan diaplikasikan ke dalam sebuah produk (Haryono et al., 2008). Tween 80 sebagai surfaktan dan stabilizer sangat baik untuk digunakan sebagai penstabil selain itu dapat mengontrol pembentukan AgNPs (Hu et al., 2020).

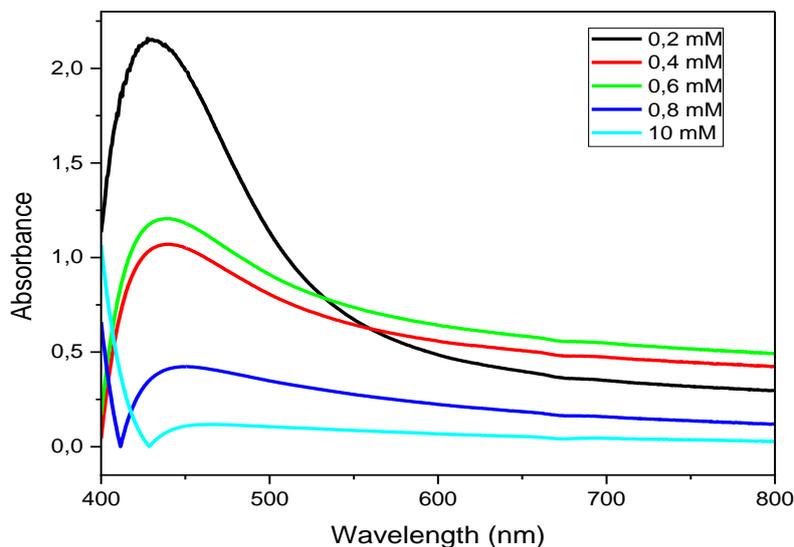


**Gambar 34. Pengaruh penambahan Tween 80 dan konsentrasi AgNO<sub>3</sub> (a) EO, (b) 0,2 mM, (c) 0,4 mM, (d) 0,6 mM, (e) 0,8 mM dan (f) 1,0 mM terhadap stabilitas EO-AgNPs**

Gambar 34, menunjukkan hasil perubahan warna EO-AgNPs setelah 1 jam. Dilakukan pengamatan secara visual dengan mengamati perubahan warna yang terbentuk. (a) EO-100% berwarna kuning pucat (b) 0,2 mM larutan menjadi sedikit kecoklatan, (c) 0,4 mM, (d) 0,6 mM, (e) 0,8 mM terjadi perubahan warna menjadi coklat dan (f) 1,0 mM coklat tua. Terjadinya perubahan warna menandakan proses reduksi dari reduktor telah berhasil. Ag<sup>+</sup> direduksi menjadi Ag<sup>0</sup>. Minyak atsiri biji pala dapat berfungsi sebagai agen pereduksi dan juga peran tween 80 yang membuatnya cenderung lebih stabil (Sharma et al., 2014). Konsentrasi AgNO<sub>3</sub> berpengaruh terhadap perubahan warna yang terbentuk pada nanopartikel. Semakin tinggi konsentrasi logam prekursor AgNO<sub>3</sub> maka semakin cepat intensitas warna yang terjadi.

Nanopartikel perak memiliki panjang gelombang maksimum ( $\lambda$  max) dengan nilai kisaran antara 400-500 nm (Almasoud et al., 2021). Pengamatan larutan nanopartikel perak selain dari perubahan warna yang mengindikasikan berhasilnya pembentukan nanopartikel selanjutnya untuk mengetahui kestabilan nanopartikel perak dikonfirmasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Spektrum UV-Vis dapat memberikan informasi tentang berat atau jumlah partikel (absorbansi), ukuran partikel ( $\lambda$  max), dan dispersi ukuran partikel dalam larutan (lebar pita absorbansi) (Helmlinger et al., 2016). Daerah panjang gelombang yang diukur 380-800 nm.

Nanopartikel perak memiliki panjang gelombang maksimum ( $\lambda$  max) dengan nilai kisaran antara 400-500 nm (Almasoud et al., 2021). Hasil analisis ditunjukkan pada Gambar 35, dengan panjang gelombang maksimum yang terdeteksi pada masing-masing konsentrasi yaitu 0,2 mM 427,5 nm, 0,4 mM 438,5 nm; 0,6 mM 438 nm, 0,8 mM 451 nm dan 0,1 mM 468 nm dengan absorbansi pada masing-masing konsentrasi 2,1594; 1,0706; 1,2059; 0,4231 dan 0,1178. Hal ini mengindikasikan EO-AgNPe dengan pengaruh penambahan Tween 80 pada cenderung stabil.



**Gambar 35. Spektra UV-Vis penambahan tween 80 terhadap stabilitas EO-AgNPs**

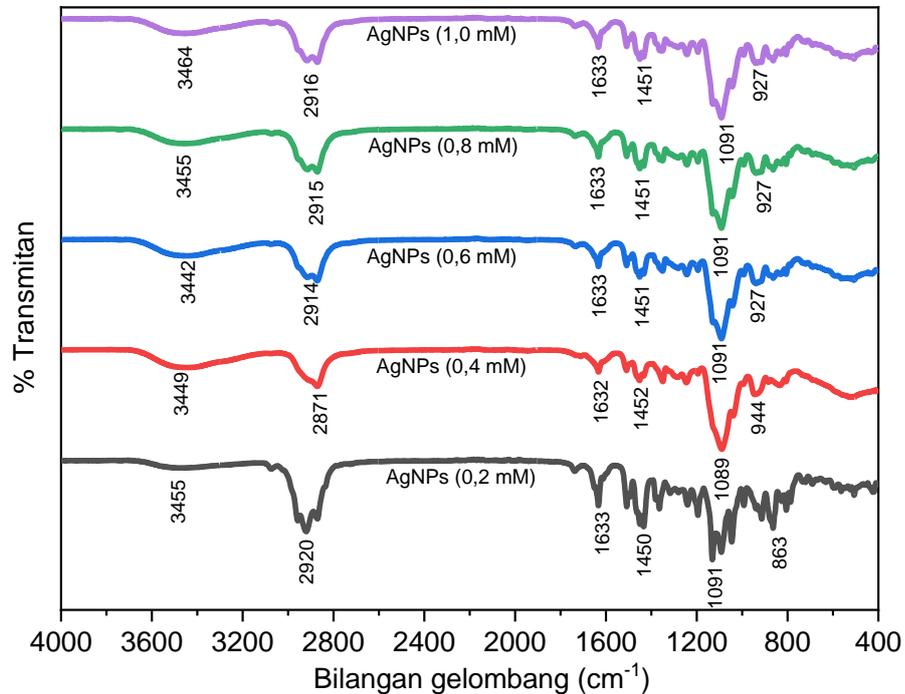
**Tabel 12. Serapan maksimum EO-AgNPs dengan penambahan tween 80**

Konsentrasi EO-AgNPs (mM)	$\lambda$ max (nm)	Absorbansi
0,2	427	2,159
0,4	438	1,070
0,6	438	1,205
0,8	451	0,423
1,0	468	0,117

Berdasarkan Tabel 12 dapat disimpulkan bahwa semakin kecil konsentrasi AgNO<sub>3</sub> dengan penambahan tween 80 terhadap EO-AgNPs maka semakin tinggi nilai absorbansi dengan puncak serapan maksimum 427 nm. Hal ini mengindikasikan konsentrasi AgNO<sub>3</sub> dengan penambahan Tween 80 berpengaruh terhadap pembentukan nanopartikel perak.

Karakterisasi FTIR nanopartikel perak dilakukan untuk mengidentifikasi kemungkinan interaksi antara senyawa dalam reduktor dan nanopartikel perak. Minyak atsiri memiliki berbagai jenis gugus fungsi dalam struktur molekulnya. Gugus fungsi dalam minyak atsiri seperti alkohol, keton, aldehida, dan lakton dari terpenoid. Gugus fungsi dalam minyak atsiri seperti C=C, -CH<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub>, -OH, CH, C=O, COC, CH<sub>3</sub>-C-CH<sub>3</sub>, CO, dan -CN. Gugus fungsi menempati berbagai posisi sesuai dengan reduksi dan kemampuan stabilisasinya. Gugus fungsi menunjukkan keterlibatannya dalam sintesis bahan nanopartikel. Gugus fungsi dalam minyak atsiri digunakan untuk reduksi ion perak Ag<sup>+</sup> menjadi perak Ag<sup>0</sup> (Sana et al., 2021).

Selain dianalisis menggunakan spektrofotometer Uv-Vis, larutan juga dikarakterisasi dengan *Fourier Transform Infra-Red* untuk mengetahui gugus fungsi yang dapat mengindikasikan nanopartikel perak. Pengukuran dilakukan pada bilangan gelombang 4000-400 cm<sup>-1</sup>. Karakterisasi FTIR nanopartikel perak dilakukan setelah penambahan 1 mL tween 80 sebagai stabilisator dan konsentrasi AgNO<sub>3</sub> 0,0003, 0,0006, 0,0010, 0,0013 dan 0,0017 gram yang ditunjukkan pada Gambar 38.



**Gambar 38. Spektrum FTIR EO-AgNPs terhadap pengaruh penambahan tween 80**

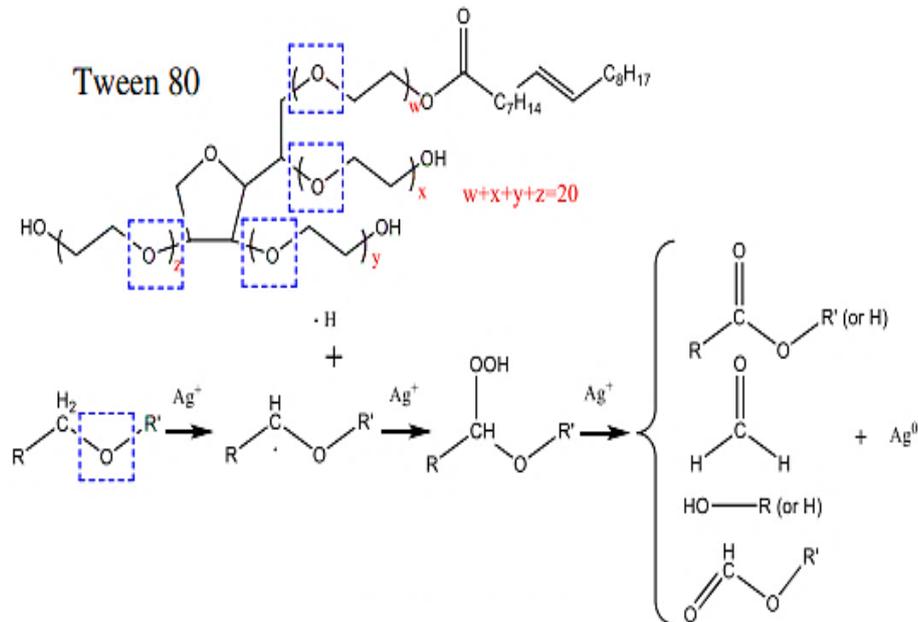
Gambar 38 menunjukkan spektrum FTIR EO-AgNPs dengan penambahan tween 80. Seperti yang ditunjukkan pada spekturm sampel, vibrasi regangan gugus hidroksil OH yang berasal dari senyawa fenolik direpresentasikan pada 3442 dan 3464  $\text{cm}^{-1}$  (regangan asimetris) dan getaran ulur  $\text{CH}_2$  pada serapan 2916  $\text{cm}^{-1}$  dan 2921  $\text{cm}^{-1}$  terjadi peregang asimetris dan regangan simetris pada masing-masing puncak. serapan 1633  $\text{cm}^{-1}$  sebagai getaran peregang  $\text{C}=\text{C}$  aromatik, puncak pada bilangan gelombang 1450  $\text{cm}^{-1}$  mengalami pergeseran bilangan gelombang menjadi 1452  $\text{cm}^{-1}$  yang terdeteksi sebagai vibrasi tekuk asimetris dan asimetris  $\text{CH}_3$  dan puncak 1091  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan serapan regangan  $\text{C}-\text{O}$  alkohol dari gugus ester. Hal ini mengindikasikan bahwa adanya interaksi antara OH dengan Ag dalam larutan nanopartikel perak.

**Tabel 4.1 Interpretasi spektrum FTIR AgNPs terhadap pengaruh penambahan tween 80**

Bilangan Gelombang (cm <sup>-1</sup> )					Gugus Fungsi
Konsentrasi Nanopartikel Perak (mM)					
0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	
3455	3449	3442	3455	3464	OH
2920	2871	2914	2915	2916	CH <sub>2</sub>
1633	1633	1633	1633	1633	C=O
1450	1450	1450	1450	1450	CH <sub>3</sub>
1091	1091	1091	1091	1091	C-O

Berdasarkan Tabel 4.1, Hasil interpretasi spektra IR dapat diamati terjadinya pergeseran bilangan gelombang pada setiap konsentrasi. Munculnya puncak karakteristik dari nanopartikel perak (3422-3464 cm<sup>-1</sup>) menandakan adanya interaksi antara gugus OH terhadap Ag untuk membentuk nanopartikel perak dan terdispersinya tween 80 pada permukaan Ag. (Li et al., 2012) melaporkan adanya gugus hidroksil dalam senyawa fenolik minyak atsiri biji pala dan gugus karbonil dalam tween 80 dapat mereduksi ion logam Ag.

Berdasarkan hasil analisis diatas kemungkinan mekanisme reduksi terkait dengan oksidasi Ag<sup>+</sup> dari Tween 80. Tween 80 digunakan sebagai agen stabilisator dan pengemulsi, sejenis surfaktan non-ionik yang diturunkan dari sorbitan polietoksilat dan asam oleat, sering digunakan sebagai pengemulsi dalam aplikasi makanan dan farmakologi. Gugus hidrofiliknya adalah polieter yang dikenal sebagai rantai polioksietilen (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-), yang mampu mereduksi ion logam menjadi unsur logam (Currie et al., 2004; Taylor, 1980). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa surfaktan dengan gugus fungsi tertentu dapat mereduksi ion logam melalui reaksi reduksi terkait dengan oksidasi (Zhang & Sui, 2015; Kv1 et al., 2008; Nourafkan & Alamdari, 2014; Sadjadi et al., 2008; Li et al., 2015; Li et al., 2012).



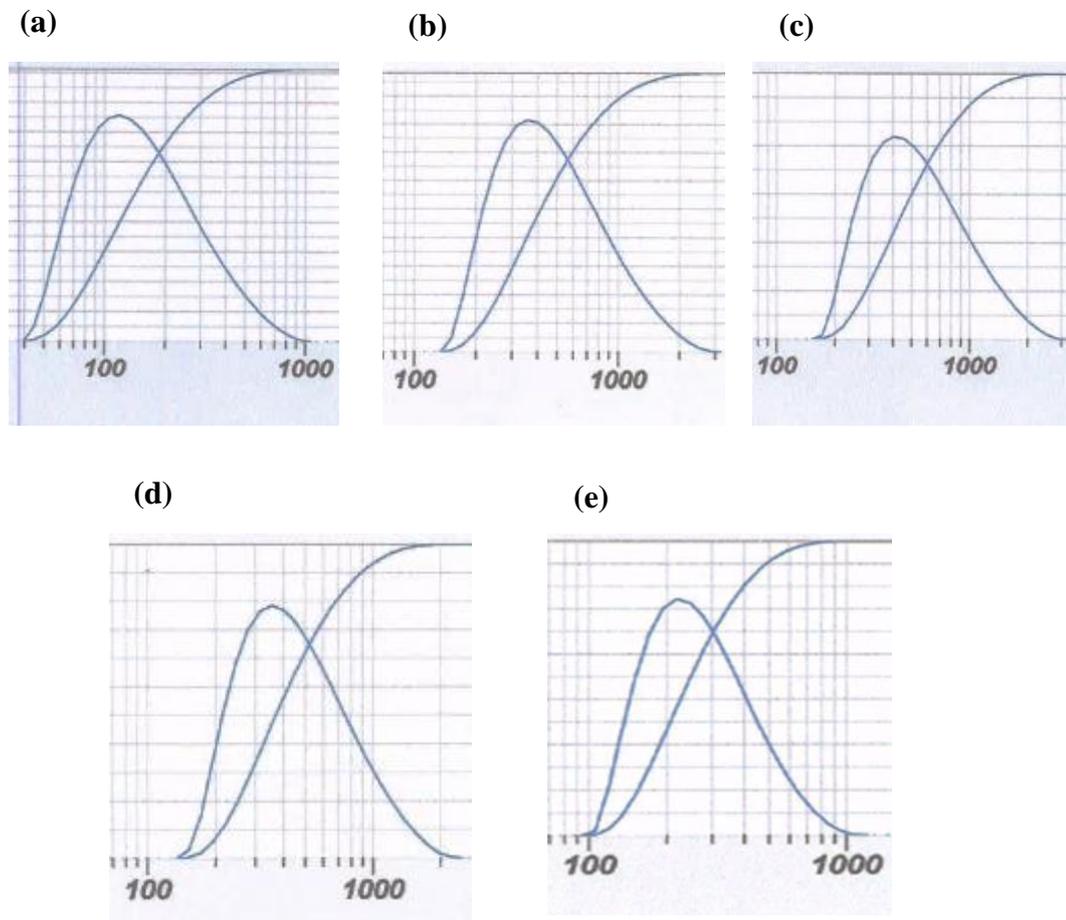
**Gambar 39. Kemungkinan mekanisme reaksi yang terjadi antara  $\text{Ag}^+$  dengan tween 80**

Gambar 39 menyajikan struktur kimia tween 80 yang ditunjukkan oleh empat set tanda kurung yang ditandai dengan simbol dari 'w +x+y dan z', terdapat beberapa gugus  $-\text{R}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{R}'$  bahwa tween 80 diyakini mengalami reaksi redoks, di mana radikal bebas terbentuk dari  $\alpha$ -karbon oksigen eter melalui pemisahan hidrogen pada tahap awal. Setelah itu, radikal dapat dioksidasi lebih lanjut menjadi ester, atau didegradasi menjadi aldehida (M. Pal et al., 2012). Ion logam seperti  $\text{Ag}^+$  dapat mempercepat proses oksidasi (Li et al., 2012).

Menentukan karakterisasi distribusi ukuran nanopartikel bagian yang penting untuk diketahui karena dengan ukuran yang diperoleh akan menentukan efektifitas bahan uji dan mudahnya partikel tersebut terabsorpsi dalam sel mikroba. Secara umum, ukuran dan bentuk merupakan faktor penting yang menentukan efek biologis nanopartikel, seperti serapan seluler, aktivasi seluler, serta distribusi antar sel (Helmlinger et al., 2016).

Nanopartikel perak dikarakterisasi menggunakan PSA bertujuan untuk mengetahui distribusi ukuran partikel. Homogenitas suatu larutan yang dianalisis dengan PSA juga dapat diketahui dari polidispersi indeks (PI) yang memiliki range 0-1. Dimana nilai yang mendekati 0 menandakan disperse yang homogen

sedangkan nilai yang lebih besar dari 0,5 mengindikasikan disperse yang terjadi secara heterogen (Avadi et al., 2010).



**Gambar 40. Distribusi ukuran partikel EO-AgNPs, (a) 0,2 mM, (b) 0,4 mM, (c) 0,6 mM, (d) 0,8 mM dan (e) 1,0 mM**

Nanopartikel didefinisikan sebagai partikel dengan ukuran 1-1000 nm (Mohanraj & Chen, 2007). Berdasarkan hasil analisis pada Gambar 40. Ukuran partikel EO-AgNPs dengan pengaruh penambahan tween 80 pada masing-masing konsentrasi 0,2 mM, 0,4 mM, 0,6 mM, 0,8 mM dan 1,0 mM memiliki ukuran partikel 138,3, 299,9, 439,9, 389,8, 248,4 nm dan nilai PI (*Polydispersity Indeks*) 0,143, 0,551, 0,246, 0,143 dan 0,260. Nilai polidispersi yang dihasilkan  $<0,5$  maka larutan nanopartikel terdispersi secara homogen dengan munculnya satu puncak pada masing-masing konsentrasi. Nilai PI pada konsentrasi 0,4 Mm  $>0,5$  hal ini berarti larutan tidak terdispersi secara homogen ditunjukkan pada Tabel 14.

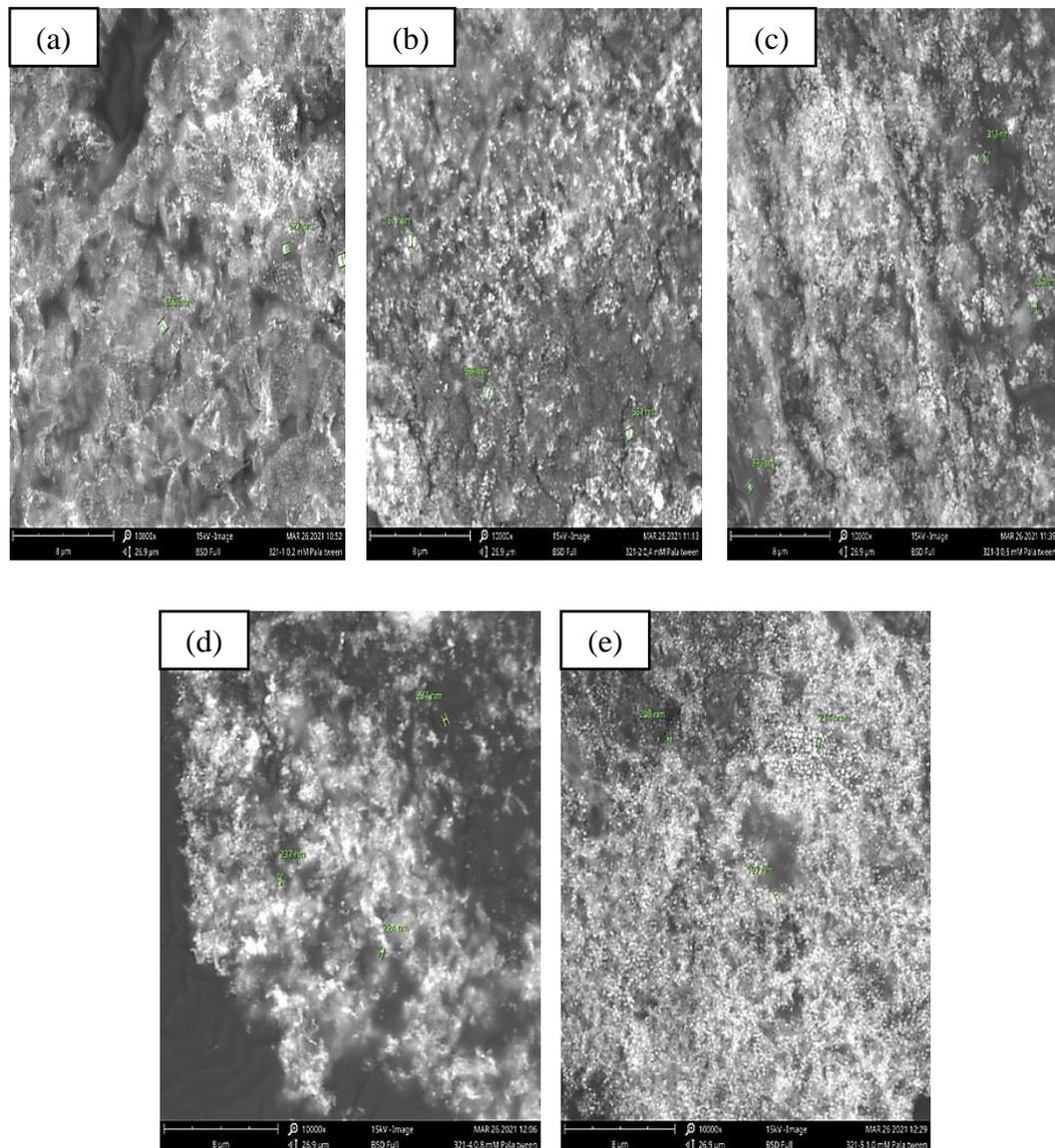
Semakin nilai PI (*polydispersity index*) mendekati 0 (nol), distribusinya semakin baik dan menunjukkan kestabilan fisik yang baik (Kasim et al., 2020). Ukuran yang dihasilkan telah memenuhi range karena <1000 nm, ukuran partikel akan mempengaruhi kinerja bahan, ukuran partikel yang kecil akan memiliki luas permukaan yang lebih besar sehingga mempercepat proses absorpsi larutan nanopartikel perak.

Nilai PI (*polydispersity index*) merupakan penyebaran distribusi ukuran partikel. semakin kecil nilai indeks polidispersitas maka semakin seragam ukuran partikel dari sediaan tersebut (Aprilia, 2018). PI memiliki range 0-1, dimana nilai yang mendekati 0 mengindikasikan disperse homogen sedangkan nilai yang lebih besar dari 0,5 menunjukkan dispersi secara heterogen dan ukuran partikel cenderung tidak seragam.

**Tabel 14. Distribusi ukuran partikel dengan pengaruh penambahan tween 80**

Konsentrasi AgNO <sub>3</sub> (mM)	Ukuran partikel (nm)	Nilai PI
0,2	138,3	0,143
0,4	299,9	0,551
0,6	439,9	0,246
0,8	389,8	0,143
1,0	248,4	0,260

Setelah dianalisis menggunakan PSA untuk mengetahui distribusi ukuran partikel selanjutnya dikarakterisasi dengan SEM, bertujuan untuk mengetahui keseragaman morfologi permukaan partikel. Karakterisasi SEM nanopartikel perak dengan pengaruh penambahan surfaktan tween 80 dengan berbagai konsentrasi AgNO<sub>3</sub> 0,2 mM; 0,4 mM; 0,6 mM; 0,8 mM; dan 1,0 mM dilakukan pada perbesaran 10000x (Gambar 41).

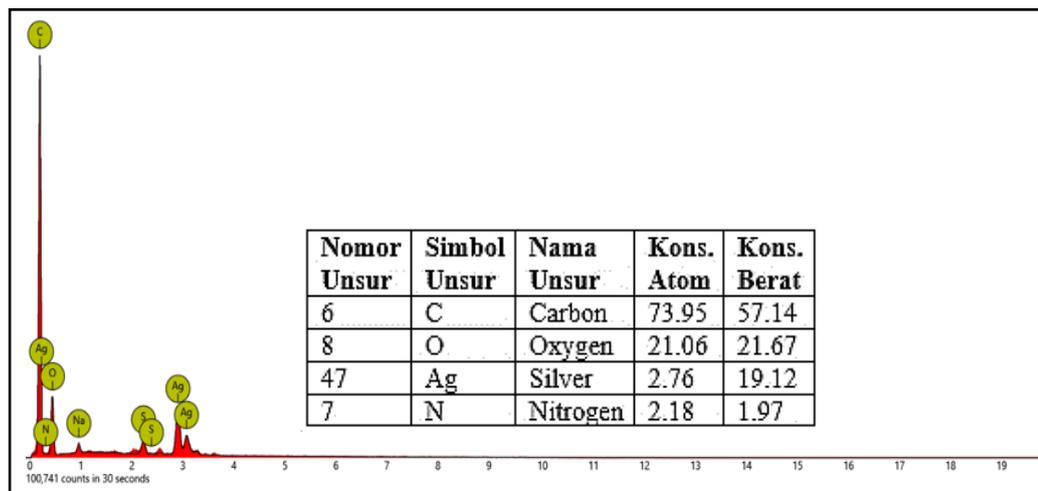


**Gambar 41. Morfologi EO-AgNPs dengan perbesaran 10000x. (a) 0,2 mM, (b) 0,4 mM, (c) 0,6 mM, (d) 0,8 mM dan (e) 1,0 mM**

Gambar 41 merupakan hasil analisis SEM terhadap larutan nanopartikel perak (AgNPs). Karakterisasi SEM nanopartikel perak pengaruh penambahan surfaktan tween 80 dengan berbagai konsentrasi perak nitrat (AgNO<sub>3</sub>) 0,2 mM; 0,4 mM; 0,6 mM; 0,8 mM; dan 1,0 mM dilakukan pada perbesaran 10000x. Analisis SEM bertujuan melihat morfologi permukaan partikel. Morfologi permukaan EO-AgNPs yang dihasilkan tidak terlihat adanya perbedaan yang signifikan dapat dilihat pada Gambar 41.

Hasil analisis morfologi partikel memiliki bentuk bulat dengan distribusi permukaan partikel yang tidak merata dan cenderung beraglomerasi. Aglomerasi merupakan partikel-partikel yang terdispersi dalam fase cair akan menempel satu sama lain dan membentuk kumpulan tidak beraturan seperti kluster flok atau agregat yang menyebabkan pelebaran ukuran partikel. Adanya kecenderungan nanopartikel untuk beragregasi menyebabkan ukuran dan diameter nanopartikel tidak seragam (Masakke et al., 2015). Ukuran partikel yang tidak seragam disebabkan pelarut EO-AgNPs menguap selama proses preparasi, sehingga nanopartikel perak terbentuk menjadi tidak stabil.

EDX dihasilkan dari sinar x, yaitu dengan menembakkan sinar x pada posisi yang ingin kita ketahui komposisinya. Setelah ditembakkan akan dihasilkan puncak-puncak tertentu yang mewakili suatu unsur yang terkandung serta mengetahui persentase masing-masing unsur.



**Gambar 42. Spektra EDX dan unsur EO-AgNPs dari penambahan tween 80 dengan konsentrasi AgNO<sub>3</sub>**

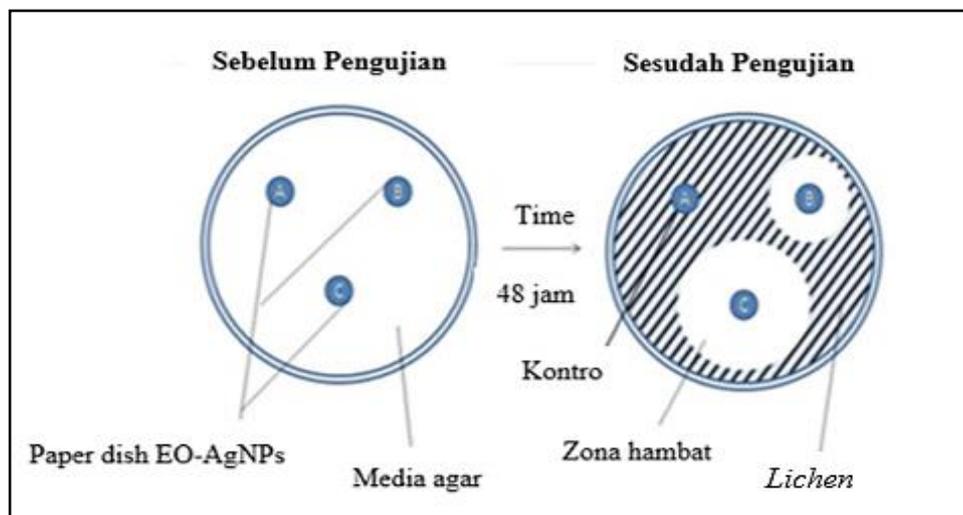
Berdasarkan analisis presentase unsur yang terkandung dalam pembentukan nanopartikel perak ditunjukkan pada Gambar 42. Dari hasil analisis dapat diketahui kandungan unsur dalam pembentukan nanopartikel perak diantaranya C, O, Ag, N dan S dengan nilai presentase masing-masing 57,41%, 21,67%, 19,12%, 1,97% dan 0,10%. Nilai presentase unsur tertinggi yaitu C yang terkontaminasi oleh carbon

tape saat dilakukan preparasi sampel dan S dengan presentase terendah yang terkontaminasi karena sampel berkontak dengan udara.

#### IV.4. Aplikasi Nanopartikel perak sebagai Anti-Lichen

##### IV.4.1 Uji Aktivitas Anti-Lichen secara skala Lab

Zona hambat adalah tempat yang tidak terdapat mikroba disekitar paper dish yang telah dicelupkan bahan uji dengan konsentrasi tertentu. Terbentuknya lebar diameter zona hambat pada sekitar paper disk menjadi parameter yang menandakan kekuatan senyawa aktif dalam reduktor. Semakin lebar diameter zona bening yang terbentuk semakin efektif larutan EO-AgNPs.



**Gambar 43. Ilustrasi sebelum dan sesudah pengujian EO-AgNPs terhadap lichen**

Ilustrasi zona bening pada sekitar paper dish sebelum dan sesudah dilakukan pengujian disajikan pada Gambar 44. Kategori daya hambat pada diameter penghambatan dikelompokkan menjadi tiga kategori antara lain pertama penghambatan 0-3 mm termasuk kategori lemah, kedua termasuk kategori sedang dengan diameter hambat 3-6 mm dan ketiga kategori kuat dengan diameter hambat > 6 mm. suatu bahan uji dikatakan mempunyai aktivitas anti-mikroba apabila diameter hambat yang terbentuk lebih besar atau sama dengan 6 mm (Suciati et al., 2012).

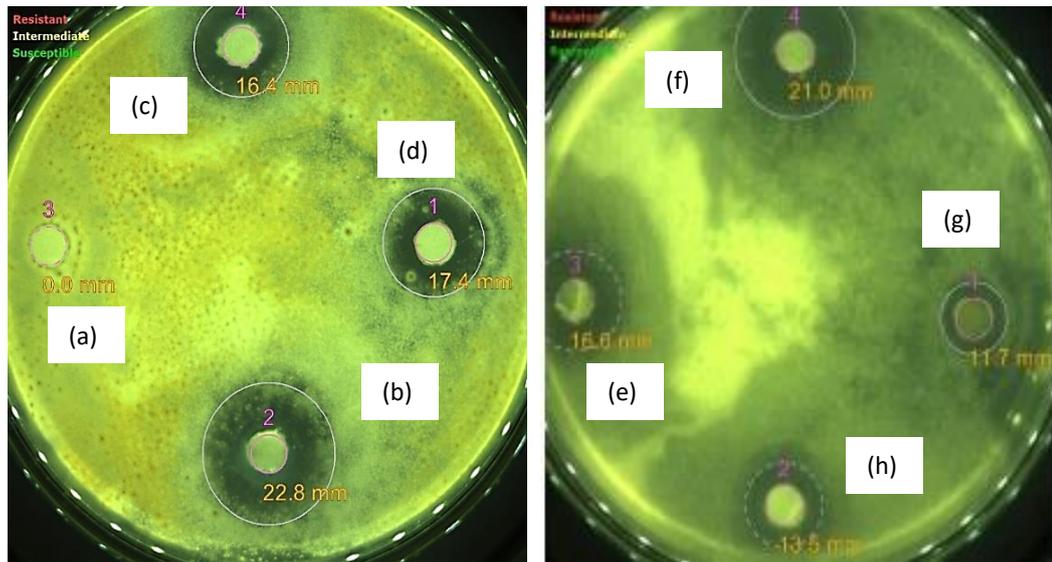
*Lichen* atau Lumut kerak merupakan symbiosis mutualisme antara alga dan jamur yang mampu bertahan hidup dengan cuaca yang panas maupun dingin dan

dapat hidup di berbagai tempat seperti batuan maupun kayu. Jenis jamur yang bersimbiosis biasanya berasal dari kelompok *Ascomycota* dan *Basidiomycota*, sedangkan simbiosis alga biasanya bersel satu atau berbentuk benang dari *Chlorophyta* atau *Cyanophyta*. Mekanisme penghambatan aktivitas *lichen* pada permukaan batu tidak terlepas dari peran kandungan senyawa yang terdapat dalam minyak atsiri biji pala yang digunakan sebagai reduktor dan Ag dalam bahan uji. Biji pala memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri dan jamur (Gupta & Rajpurohit, 2011) .  $\alpha$ -pinene dan  $\beta$ -pinene telah dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba (Dorman & Deans, 2000). Serta didukung oleh logam Ag yang memiliki efek antijamur (Mulwandari et al., n.d 2020).

Pada penelitian ini dilakukan pengujian larutan nanopartikel menggunakan metode difusi paper dish terhadap aktivitas *anti-lichen*. Prinsip metode ini adalah kertas saring (kertas cakram) direndam dalam larutan EO- AgNPs selama 60 menit dan diletakkan pada permukaan media agar steril. Selanjutnya dilakukan penyebaran kultur *lichen* secara merata dan di inkubasi pada suhu 37°C dan dilakukan pengamatan setelah 48 jam, selama inkubasi senyawa kimia dalam larutan EO- AgNPs akan berdifusi dari kertas saring ke dalam media agar, senyawa kimia yang terkandung dalam reduktor bekerja dengan merusak dinding sel *lichen*. Sel hanya dibatasi oleh selaput tipis dan dapat pecah atau rusak dan merubah komponen organik serta transport nutrisi yang akhirnya mengakibatkan adanya efek toksik pada mikroba dan akan membentuk zona hambat (Jupriadi, 2011). Lebar diameter zona hambat nanopartikel perak terhadap *anti-lichen* disajikan pada Tabel 15.

**Tabel 15. Diameter zona hambat EO-AgNPs terhadap pertumbuhan *lichen***

Konsentrasi AgNPs (mM)	Inhibitor zone (mm)
Kontrol	0
EO-100%	11,7
0,2	22,8
0,4	16,4
0,6	17,4
0,8	16,0
1,0	21,0



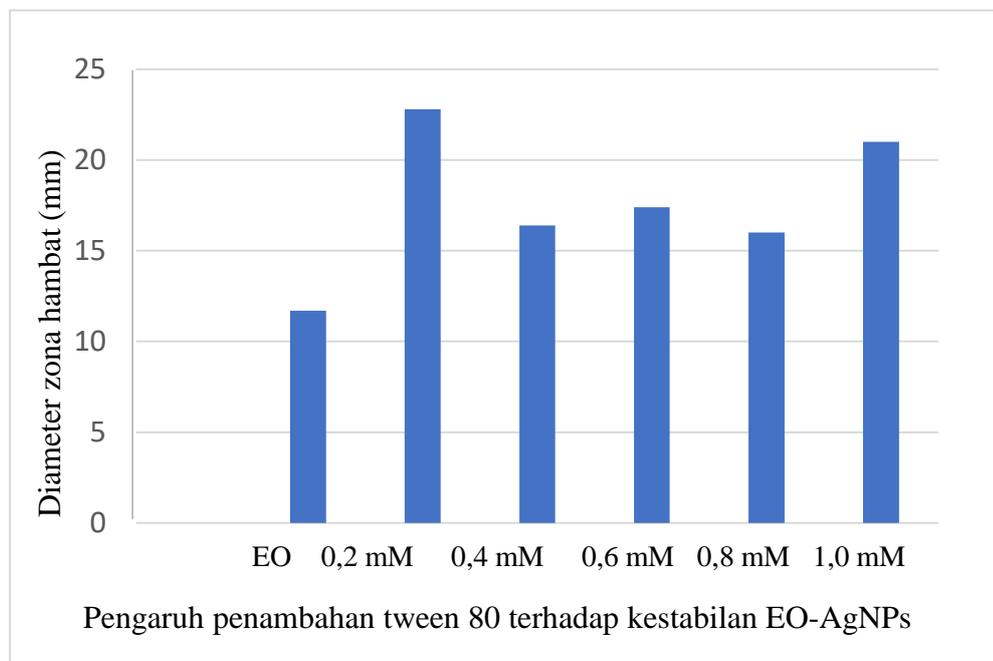
**Gambar 44. Uji Aktivitas *anti-lichen* dengan konsentrasi (a) kontrol, (b) 0,2 mM, (c) 0,4 mM, (d) 0,6 mM, (e) 0,8 mM, (f) 1,0 mM, (g) Minyak biji pala dan (h) PEG 400**

Berdasarkan hasil uji aktivitas *anti-lichen* dengan pengaruh penambahan tween 80 ditunjukkan pada Gambar 44. Larutan EO-AgNPs memperlihatkan aktivitas inhibisi terhadap *lichen* dengan terbentuknya zona bening pada masing-masing konsentrasi. Hasil uji daya hambat diperoleh diameter zona hambat dari masing-masing konsentrasi dilihat pada Gambar 44 (a) Kontrol (0 mm), (b) 0,2 mM (22,8 mm), (c) 0,4 mM (16,4), (d) 0,6 mM (17,4 mm), (e) 0,8 mM (16,0 mm), (f) 1,0 mM (21,0 mm), (g) minyak biji pala (11,7 mm) dan PEG 400 (13,5 mm).

Daya hambat terhadap lichen ditandai dengan adanya zona bening disekitar kertas. Ukuran zona bening yang terbentuk mengindikasikan kekuatan daya hambat AgNPs. Semakin lebar zona bening yang terbentuk mengindikasikan semakin kuatnya senyawa aktif yang menghambat perkembangbiakan *lichen*. Zona hambat yang terbentuk tergantung kecepatan difusi senyawa aktif larutan EO-AgNPs pada media agar, semakin cepat difusi senyawa aktif dalam media maka semakin lebar zona bening yang terbentuk. Dilaporkan oleh (Panggabean, 2016), difusi dari bahan uji dalam media agar menentukan penghambatan terhadap mikroba.

Hasil uji efektifitas EO-AgNPs terhadap *lichen* dilakukan pengamatan setelah 48 jam lebar zona bening telah terbentuk pada masing-masing konsentrasi

(Gambar 44). Masing-masing konsentrasi memiliki efektivitas *anti-lichen* dengan intensitas daya hambat yang kuat yaitu  $> 3$  mm. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan larutan EO-AgNPs disintesis menggunakan minyak atsiri biji pala terbukti mempunyai aktivitas *anti-lichen* dengan intensitas daya hambat yang kuat. Penghambatan pertumbuhan mikroba dipengaruhi oleh senyawa aktif dalam minyak atsiri biji pala (Rumopa et al., 2016). Logam Ag bersifat toxic terhadap membran sel sehingga mempengaruhi pernapasan dan menyebabkan terjadinya kematian sel (Dp, 2018). Serta Nanopartikel perak juga mempunyai aktivitas antimikroba (Sharma et al., 2014). Aktivitas daya hambat tertinggi dengan luas zona hambat 22,8 mm (b) 0,2 mM.



**Gambar 45. Grafik diameter zona hambat EO-AgNPs**

Berdasarkan grafik diameter zona hambat nanopartikel terhadap *lichen* ditunjukkan pada Gambar 45. Hasil pengamatan, minyak atsiri biji pala dalam bentuk nanopartikel mampu menghambat pertumbuhan *lichen* lebih besar dibandingkan dengan minyak biji pala murni.

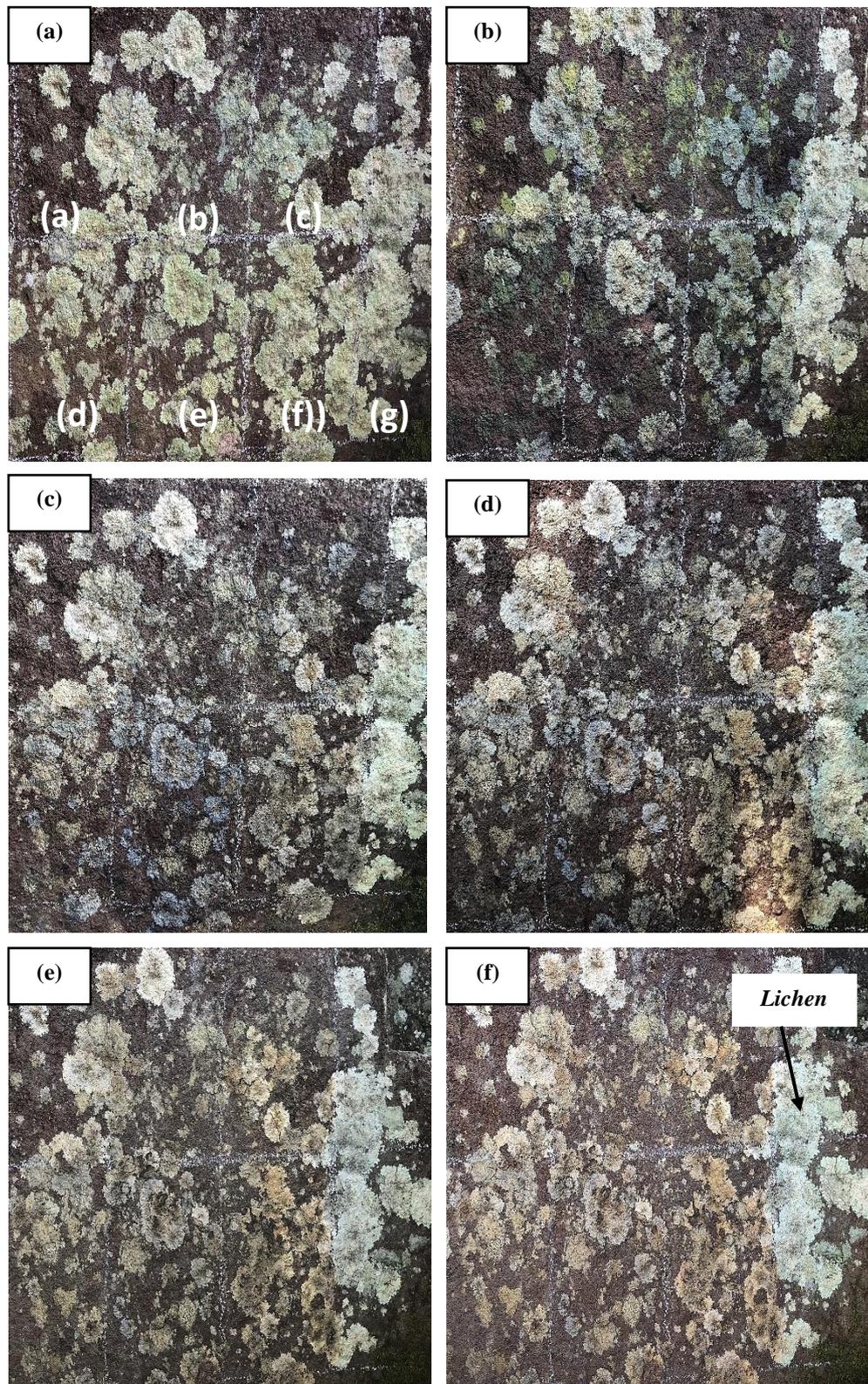
Nanopartikel perak akan merusak tegangan permukaan sel dan mengakibatkan pecahnya membrane sel sehingga keluaranya kandungan dalam sel seperti iok K, protein, asam karboksilat dan asam amino menyebabkan terjadinya

kematian pada sel (J. S. Kim et al., 2007). Logam perak memiliki kemampuan merusak dinding sel, mengganggu metabolisme sel dan menghambat sintesis sel mikroba. Metabolisme sel dapat dihambat karena adanya interaksi antara perak dengan makromolekul di dalam sel seperti protein dan DNA. Minyak atsiri biji pala memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri dan jamur (Gupta & Rajpurohit, 2011).

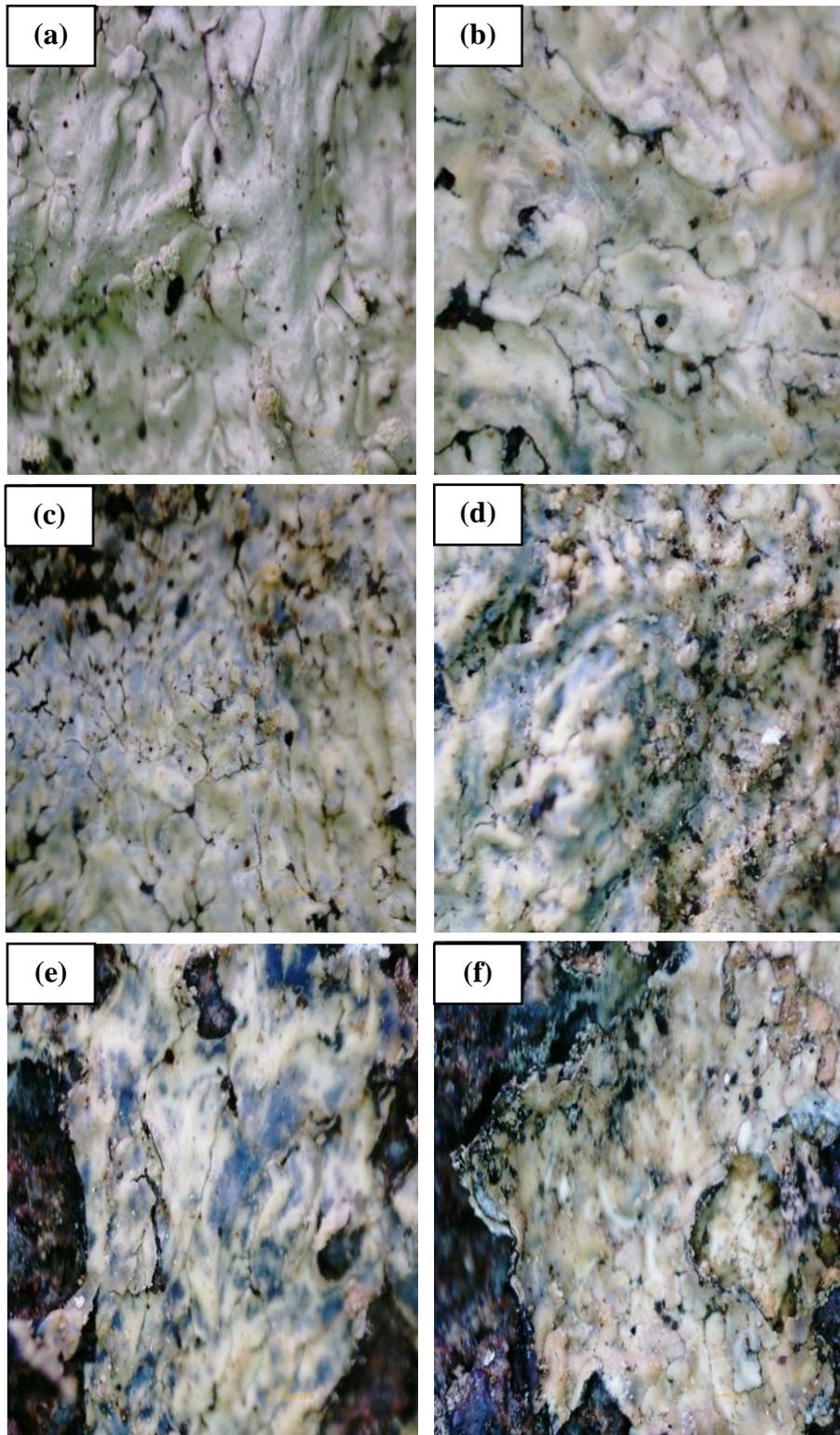
#### **IV.4.2 Aplikasi langsung EO-AgNPs terhadap *lichen* pada permukaan batu**

Dalam pengamatan skala lapangan dilakukan secara visual dengan metode spray atau semprot tujuannya agar sampel larutan EO-AgNPs mengenai seluruh sisi permukaan batu yang ditumbuhi *lichen*. Permukaan batu yang ditumbuhi *lichen* sebelum dispray diplot menjadi tujuh bagian sesuai jumlah bahan uji dan kontrol plot ke (a) sebelum dispray dan setelah dispray 24 jam (c) 48 jam (d) 72 jam (e) 240 jam dan (f) 312 dengan konsentrasi (b) 0,2 mM, (c) 0,4 mM, (d) 0,6 mM, (e) 0,8 mM, (f) 1,0 mM disajikan pada Gambar 46. Selama proses penyemprotan sampel larutan nanopartikel perak akan berdifusi dari permukaan menuju ke dalam dinding sel *lichen* dan melakukan penetrasi. Pengamatan skala lapangan dilakukan secara visual dengan mengamati perubahan warna sebelum dan sesudah dispray menggunakan larutan EO-AgNPs.

Larutan nanopartikel perak yang telah berdifusi dalam batuan selanjutnya akan berinteraksi dengan sulfur dan fosfor yang terkandung dalam DNA pada mikroba, sehingga menyebabkan kerusakan pada sel mikroba. Interaksi ini akan menyebabkan DNA kehilangan kemampuan replikasi, mencegah pembelahan sel dan pertumbuhan sel pada mikroba. Sehingga terjadinya kematian pada sel mikroba. Terhambatnya sel pada *lichen* tidak terlepas dari peran senyawa yang terdapat dalam reduktor dan juga Ag yang berfungsi sebagai penghambat sel pada *lichen*.



**Gambar 46.** Hasil pengamatan visual EO-AgNPs (a) sebelum dispray (b) setelah spray 24 jam (c) 48 jam (d) 72 jam (e) 240 jam dan (f) 312



**Gambar 47. Hasil pengamatan EO-AgNPs menggunakan handy mikroskop (a) sebelum dispray (b) setelah spray 24 jam (c) 48 jam (d) 72 jam(e) 240 jam dan (f) 312 jam**

Hasil pengamatan pada larutan EO-AgNPs menunjukkan adanya perubahan warna pada permukaan batu setelah disemprot 48, 72 dan 312 jam dari hijau menjadi coklat dan pengelupasan pada permukaan batu yang menandakan bahwa *lichen* telah mati, dapat dilihat pada Gambar 47. Konsentrasi 0,2 mM dan minyak atsiri biji pala menunjukkan perubahan warna coklat dan konsentrasi 0,4 Mm; 0,6 Mm; 0,8 Mm; 1,0 Mm; terjadi perubahan warna coklat sedangkan kontrol tidak menunjukkan terjadinya perubahan warna. Hal ini membuktikan bahwa larutan nanopartikel perak yang di aplikasikan pada permukaan batu efektif membunuh *lichen*.

Berdasarkan pengamatan efektivitas nanopartikel perak terhadap *lichen* secara visual selanjutnya dilakukan pengamatan menggunakan handy mikroskop tujuannya untuk mengamati permukaan objek dengan memberikan gambar yang lebih besar dan jelas. Hasil pengamatan menunjukkan adanya perubahan warna dari hijau sebelum dispray (a) berubah warna menjadi coklat setelah 24 jam, hitam kecoklatan setelah 48 jam dan 72 jam, berwarna kehitaman kecoklatan dan terjadi pengelupasan setelah setelah 240 jam dan 312 jam. Hal ini mengindikasikan bahwa *lichen* pada permukaan batu telah mati setelah dispray menggunakan larutan nanopartikel perak dapat dilihat pada Gambar 48.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN**

#### **V.1 Kesimpulan**

1. Hasil karakterisasi minyak atsiri biji pala yang dihasilkan yaitu minyak berwarna kuning pucat, bau khas pala, dengan kandungan utama tertinggi sabinene myristicin,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, alpha terpineol.
2. Sintesis EO-AgNPs secara langsung menggunakan minyak atsiri biji pala dengan mencampurkan padatan AgNO<sub>3</sub> ditandai terjadinya perubahan warna menjadi coklat hingga coklat tua sebagai indikator terbentuknya EO-AgNPs.
3. Variasi waktu penyimpanan dan konsentrasi AgNO<sub>3</sub> terhadap pembentukan EO-AgNPs menunjukkan semakin lama waktu penyimpanan dan semakin tinggi konsentrasi AgNO<sub>3</sub>, maka perubahan warna larutan yang dihasilkan semakin gelap dan cenderung stabil dengan nilai  $\lambda_{max}$  dan absorbansi yang semakin tinggi.
4. Pembentukan EO-AgNPs dari perbandingan penambahan surfaktan tween 80 dan ko-surfaktan PEG 400 menunjukkan surfaktan tween 80 lebih stabil.
5. Semakin kecil konsentrasi AgNO<sub>3</sub> maka daya hambat semakin besar dengan nilai absorbansi yang semakin tinggi.
6. Uji aktivitas EO-AgNPs daya hambat terhadap lichen terbukti efektif dibandingkan menggunakan EO saja, terbentuknya zona bening dengan intensitas daya hambat yang kuat. Aplikasi lapangan EO-AgNPs diamati secara visual dan menggunakan handy mikroskop efektif membunuh lichen yang ditandai dengan perubahan warna lichen dari hijau menjadi coklat kehitaman dan mengelupas.

#### **V.2 Saran**

1. Peneliti selanjutnya dapat melakukan variasi suhu, pengadukan, variasi penambahan surfaktan Tween 80 terhadap pembentukan ukuran partikel EO-AgNPs
2. Peneliti selanjutnya dapat membuat EO-AgNPs menggunakan minyak atsiri yang lain dan diaplikasikan pada jenis jamur yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abou El-Nour, K. M. M., Eftaiha, A., Al-Warthan, A., & Ammar, R. A. A. (2010). Synthesis and applications of silver nanoparticles. *Arabian Journal of Chemistry*, 3(3), 135–140. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.04.008>
- Agen, D., Polivinilalkohol, S., Apriandanu, D. O. B., Wahyuni, S., & Hadisaputro, S. (2013). *Jurnal MIPA*. 36(2), 157–168.
- Ahmad, M. Bin, Tay, M. Y., Shameli, K., Hussein, M. Z., & Lim, J. J. (2011). Green synthesis and characterization of silver/chitosan/polyethylene glycol nanocomposites without any reducing agent. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(8), 4872–4884. <https://doi.org/10.3390/ijms12084872>
- Ahmed, S., Saifullah, Ahmad, M., Swami, B. L., & Ikram, S. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2015.06.006>
- Ajitha, B., Kumar Reddy, Y. A., Reddy, P. S., Jeon, H. J., & Ahn, C. W. (2016). Role of capping agents in controlling silver nanoparticles size, antibacterial activity and potential application as optical hydrogen peroxide sensor. *RSC Advances*, 6(42), 36171–36179. <https://doi.org/10.1039/c6ra03766f>
- Al-Jumaily, E. F., & Al-Amiry, M. H. A. (2012). Extraction and Purification of Terpenes from Nutmeg (*myristica fragrans*). *Journal of Al-Nahrain University Science*, 15(3), 151–160. <https://doi.org/10.22401/jnus.15.3.21>
- Almasoud, N., Alhaik, H., Almutairi, M., Houjak, A., Hazazi, K., Alhayek, F., Aljanoubi, S., Alkhaibari, A., Alghamdi, A., Soliman, D. A., Alomar, T. S., & Awad, M. A. (2021). Green nanotechnology synthesized silver nanoparticles: Characterization and testing its antibacterial activity. *Green Processing and Synthesis*, 10(1), 510–528. <https://doi.org/10.1515/gps-2021-0048>
- Asfiyah, S. (2020). Modifikasi Deanstark Upaya Efisiensi Proses Distilasi Uap Minyak Biji Pala Dalam Praktikum Kimia Organik. *Indonesian Journal of Laboratory*, 2(1), 10. <https://doi.org/10.22146/ijl.v2i1.54161>
- Avadi, M. R., Sadeghi, A. M. M., Mohammadpour, N., Abedin, S., Atyabi, F., Dinarvand, R., & Rafiee-Tehrani, M. (2010). Preparation and characterization of insulin nanoparticles using chitosan and Arabic gum with ionic gelation method. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 6(1), 58–63. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2009.04.007>
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475.

<https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>

Brigger, I., Dubernet, C., & Couvreur, P. (2002). Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *54*(5), 631–651. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(02\)00044-3](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(02)00044-3)

Burford, E. P., Kierans, M., & Gadd, G. M. (2003). Geomycology: Fungi in mineral substrata. *Mycologist*, *17*(3), 98–107. <https://doi.org/10.1017/S0269915X03003112>

Cahyana, A., Marzuki, A., Ilmu, J., Pasca, F., Universitas, S., & Maret, S. (2014). *Analisa sem*.

Cassel, E., Vargas, R. M. F., & Joseph, P. (2006). Experiments and Modeling of the Cymbopogon winterianus Essential Oil Extraction by Steam Distillation. *Journal of the Mexican Chemical Society*, *50*(3), 126–129.

Chatterjee, S., Gupta, S., & Variyar, P. S. (2015). Comparison of essential oils obtained from different extraction techniques as an aid in identifying aroma significant compounds of nutmeg (*myristica fragrans*). *Natural Product Communications*, *10*(8), 1443–1446. <https://doi.org/10.1177/1934578x1501000833>

Chernousova, S., & Epple, M. (2013). Silver as antibacterial agent: Ion, nanoparticle, and metal. *Angewandte Chemie - International Edition*, *52*(6), 1636–1653. <https://doi.org/10.1002/anie.201205923>

Currie, F., Andersson, M., & Holmberg, K. (2004). Oxidation of self-organized nonionic surfactants. *Langmuir*, *20*(10), 3835–3837. <https://doi.org/10.1021/la0499665>

Dastafkan, K., Khajeh, M., Bohlooli, M., Ghaffari-Moghaddam, M., & Sheibani, N. (2015). Mechanism and behavior of silver nanoparticles in aqueous medium as adsorbent. *Talanta*, *144*, 1377–1386. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.03.065>

Dorman, H. J. D., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, *88*(2), 308–316. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x>

Dp, S. D. (2018). *Green synthesis of silver nanoparticles and its physico , phytochemical and antimicrobial properties of Cissus quadrangularis and Gymnema sylvestre from South India Green synthesis of silver nanoparticles and its physico , phytochemical and antimicrobial . February 2019*. <https://doi.org/10.21746/ijbpr.2018.7.9.1>

Duarte, R. C., Fanaro, G. B., Koike, A. C. R., Lucia, A., & Villavicencio, C. H.

- (2011). *Irradistion effect of anti fungalL Myristica fragrans (nutmeg) essential oil, A preliminary study.*
- Fatimah, I. (2017). Synthesis of Metal and Metal Oxide Nanoparticles Using Plant Extract: a Review. *Jurnal Eksakta*, 17(1), 66–85. <https://doi.org/10.20885/eksakta.vol17.iss1.art7>
- Fratilocchi, A., Dodson, C. M., Zia, R., Genevet, P., Verhagen, E., Altug, H., & Sorger, V. J. (2015). Nano-optics gets practical Early-career researchers share their thoughts on how to make use of the ability to manipulate light at the nanoscale. *Nature Nanotechnology*, 10(1), 11–15. <https://doi.org/10.1038/nnano.2014.314>
- Girão, A. V., Caputo, G., & Ferro, M. C. (2017). Application of Scanning Electron Microscopy–Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy (SEM-EDS). *Comprehensive Analytical Chemistry*, 75, 153–168. <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2016.10.002>
- Gunalan, S., Sivaraj, R., & Rajendran, V. (2012). Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens. *Progress in Natural Science: Materials International*, 22(6), 693–700. <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2012.11.0>
- Gupta, A. D., Bansal, V. K., Babu, V., & Maithil, N. (2013). Chemistry, antioxidant and antimicrobial potential of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt). *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 11(1), 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2012.12.001>
- Gupta, A. D., & Rajpurohit, D. (2011). Antioxidant and Antimicrobial Activity of Nutmeg (*Myristica fragrans*). *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, 831–839. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375688-6.10098-2>
- Gurunathan, S., Kalishwaralal, K., Vaidyanathan, R., Venkataraman, D., Pandian, S. R. K., Muniyandi, J., Hariharan, N., & Eom, S. H. (2009). Biosynthesis, purification and characterization of silver nanoparticles using *Escherichia coli*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 74(1), 328–335. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.07.048>
- Haryono, A., Sondari, D., Harnami, S., & Randy, M. (2008). Sistesa Nanopartikel Perak Dan Potensi Aplikasinya. In *Indonesian Journal of Industrial Research* (Vol. 2, Issue 3).
- Helmlinger, J., Sengstock, C., Groß-Heitfeld, C., Mayer, C., Schildhauer, T. A., Köller, M., & Eppe, M. (2016). Silver nanoparticles with different size and shape: Equal cytotoxicity, but different antibacterial effects. *RSC Advances*, 6(22), 18490–18501. <https://doi.org/10.1039/c5ra27836h>
- Hu, D., Ogawa, K., Kajiyama, M., & Enomae, T. (2020). Characterization of self-

- assembled silver nanoparticle ink based on nanoemulsion method. *Royal Society Open Science*, 7(5). <https://doi.org/10.1098/rsos.200296>
- Iglesias-Silva, E., Rivas, J., León Isidro, L. M., & López-Quintela, M. A. (2007). Synthesis of silver-coated magnetite nanoparticles. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 353(8–10), 829–831. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrsol.2006.12.050>
- Isman, M. B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19(8–10), 603–608. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00079-X](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00079-X)
- Isromarina, R., Intan, N. R. P., & Sari, E. R. (2020). Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Biji Pala (*Myristica fragrans* Houtt). *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi*, 1, 33–36. <https://ejournal.stifibp.ac.id/index.php/jibf/article/view/59>
- Jatika, A., Ngadiwiyan, N., & Ismiyanto, I. (2009). Sintesis Metilisoegenol dari Metileugenol Menggunakan Katalis KOH dalam Etanol. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 12(3), 76–80. <https://doi.org/10.14710/jksa.12.3.76-80>
- Jayaseelan, C., Rahuman, A. A., Roopan, S. M., Kirthi, A. V., Venkatesan, J., Kim, S. K., Iyappan, M., & Siva, C. (2013). Biological approach to synthesize TiO<sub>2</sub> nanoparticles using *Aeromonas hydrophila* and its antibacterial activity. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 107, 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.12.083>
- Jannathul Firdhouse, M., Lalitha, P., & Sripathi, S. K. (2012). Novel synthesis of silver nanoparticles using leaf ethanol extract of *Pisonia grandis* (R. Br). *Der Pharma Chemica*, 4(6), 2320–2326.
- Kadam, R. N., Shendge, R. S., & Pande, V. V. (2015). A review of nanotechnology with an emphasis on Nanoplex. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 51(2), 255–263. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502015000200002>
- Kerkeni, L., Ruano, P., Delgado, L. L., Picco, S., Villegas, L., Tonelli, F., Merlo, M., Rigau, J., Diaz, D., & Masuelli, M. (2016). We are IntechOpen, the world's leading publisher of Open Access books Built by scientists, for scientists TOP 1%. *Intech, tourism*, 13. <https://www.intechopen.com/books/advanced-biometric-technologies/liveness-detection-in-biometrics>
- Ketaren, S., Ngudiwaluyo, S., & Friyadi, A. (2007). Isolasi myristicin dari minyak pala (*Myristica fragrans*) dengan metode penyulingan uap. *Journal of Agroindustrial Technology*, 17(1), 23–28.
- Kim, J. S., Kuk, E., Yu, K. N., Kim, J. H., Park, S. J., Lee, H. J., Kim, S. H., Park, Y. K., Park, Y. H., Hwang, C. Y., Kim, Y. K., Lee, Y. S., Jeong, D. H., & Cho, M. H. (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 3(1), 95–101.

<https://doi.org/10.1016/j.nano.2006.12.001>

- Kim, S. C., Adesogan, A. T., & Arthington, J. D. (2007). Optimizing nitrogen utilization in growing steers fed forage diets supplemented with dried citrus pulp. *Journal of Animal Science*, 85(10), 2548–2555. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0059>
- Kvi, L., Soukupova, J., Vec, R., Pucek, R., Holecova, M., & Zbor, R. (2008). *Effect of Surfactants and Polymers on Stability and Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles ( NPs )*. 5825–5834.
- Lee, S. M., Song, K. C., & Lee, B. S. (2010). Antibacterial activity of silver nanoparticles prepared by a chemical reduction method. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 27(2), 688–692. <https://doi.org/10.1007/s11814-010-0067-0>
- Lembang, E. Y., Maming, & Zakir, M. (2014). Sintesis Nanopartikel Perak dengan Metode Reduksi Menggunakan Bioreduktor Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa*). *Nanosains Dan Nanoteknologi*, 1(2), 1–10.
- Li, H. J., Zhang, A. Q., Hu, Y., Sui, L., Qian, D. J., & Chen, M. (2012). Large-scale synthesis and self-organization of silver nanoparticles with Tween 80 as a reductant and stabilizer. *Nanoscale Research Letters*, 7(10), 1–13. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-7-612>
- Links, D. A. (2011). *Green Chemistry Green synthesis of metal nanoparticles using plants*. 2638–2650. <https://doi.org/10.1039/c1gc15386b>
- Marzuki, I., Joefrie, B., A. Aziz, S., Augusta, H., & Surahman, M. (2014). Physico-Chemical Characterization Of Maluku Nutmeg Oil. *International Journal of Science and Engineering*, 7(1). <https://doi.org/10.12777/ijse.7.1.61-64>
- Masakke, Y., Sulfikar, & Rasyid, M. (2015). Biosintesis Partikel-nano Perak Menggunakan Ekstrak Metanol Daun Manggis (*Garcinia mangostana L*) Biosynthesis of Silver Nanoparticles using Methanol Extract of Mangosteen Leaves ( *Garcinia mangostana L .* ). *Jurnal Sainsmat*, IV(1), 28–4
- Mohamed, M. A., Jaafar, J., Ismail, A. F., Othman, M. H. D., & Rahman, M. A. (2017). Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. In *Membrane Characterization*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63776-5.00001-2>
- Mohanpuria, P., Rana, N. K., & Yadav, S. K. (2008). Biosynthesis of nanoparticles: Technological concepts and future applications. *Journal of Nanoparticle Research*, 10(3), 507–517. <https://doi.org/10.1007/s11051-007-9275-x>
- Mostafa, A., Oudadesse, H., Legal, Y., Foad, E., & Cathelineau, G. (2010).

- Characteristics of Silver-Hydroxyapatite/PVP Nanocomposite. *Bioceramics Development and Applications, 1*, 1–3. <https://doi.org/10.4303/bda/d101128>
- Mousavi, S. M., Hashemi, S. A., Ramakrishna, S., Esmaeili, H., Bahrani, S., Koosha, M., & Babapoor, A. (2019a). Green synthesis of supermagnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>–MgO nanoparticles via Nutmeg essential oil toward superior anti-bacterial and anti-fungal performance. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, *54*(October), 101352. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101352>
- Mousavi, S. M., Hashemi, S. A., Ramakrishna, S., Esmaeili, H., Bahrani, S., Koosha, M., & Babapoor, A. (2019b). Green synthesis of supermagnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>–MgO nanoparticles via Nutmeg essential oil toward superior anti-bacterial and anti-fungal performance. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, *54*(August), 101352. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101352>
- Mout, R., Moyano, D. F., Rana, S., & Rotello, V. M. (2012). Surface functionalization of nanoparticles for nanomedicine. *Chemical Society Reviews*, *41*(7), 2539–2544. <https://doi.org/10.1039/c2cs15294k>
- Mulwandari, M., Asysyafiiyah, L., Sirajuddin, M. I., & Cahyandaru, N. (n.d.). *silver nanoparticle ( EO-AgNPs ) as biopesticides and application for lichens inhibition on stones*. 1–18.
- Murphy, C. J. (2008). Sustainability as an emerging design criterion in nanoparticle synthesis and applications. *Journal of Materials Chemistry*, *18*(19), 2173–2176. <https://doi.org/10.1039/b717456j>
- Manjamadha, V. P., & Muthukumar, K. (2016). Ultrasound assisted green synthesis of silver nanoparticles using weed plant. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, *39*(3), 401–411. <https://doi.org/10.1007/s00449-015-1523-3>
- Moldovan, B., David, L., Achim, M., Clichici, S., & Filip, G. A. (2016). A green approach to phytomediated synthesis of silver nanoparticles using *Sambucus nigra* L. fruits extract and their antioxidant activity. *Journal of Molecular Liquids*, *221*, 271–278.
- Nourafkan, E., & Alamdari, A. (2014). Journal of Industrial and Engineering Chemistry Study of effective parameters in silver nanoparticle synthesis through method of reverse microemulsion. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2013.12.059>
- Omar, J., González, W., Jesser, E. N., & Alan, C. (2017). *Polymer nanoparticles containing essential oils: new options for mosquito control*. July. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9327-4>

- Oo, T., Saiboonjan, B., Srijampa, S., & Srisrattakarn, A. (2021). *Essential Oil from Myristica fragrans Houtt. ( Nutmeg ) Seeds*.
- Pal, G., Rai, P., & Pandey, A. (2019). Green synthesis of nanoparticles: A greener approach for a cleaner future. In *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102579-6.00001-0>
- Pal, M., Pal, U., Miguel, J., Jiménez, G. Y., & Pérez-rodríguez, F. (2012). *Effects of crystallization and dopant concentration on the emission behavior of TiO<sub>2</sub> : Eu nanophosphors*. 1–12.
- Panggabean, K. A. (2016). *Pemanfaatan Ekstrak Biji Pala (Myristica fragrans Houtt) sebagai Antimikroba Pada Produk Sosis Tempe*. 1–95.
- Percobaan, K., & Solok, L. (2010). *Efektivitas minyak sereh wangi dan aktivitasnya sebagai anti-jamur Phytophthora palmivora*. 21(1), 43–52.
- Prasetyaningtyas, T., Prasetya, A. T., & Widiarti, N. (2020). Sintesis Nanopartikel Perak Termodifikasi Kitosan Dengan Bioreduktor Ekstrak Daun Kemangi (Ocimum Basilicum L.) Dan Uji Aktivitasnya Sebagai Antibakteri. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 9(1), 37–43.
- Purawijaya, D. A., & Priyantika, A. G. (2013). Biological Assessment Pertumbuhan Lumut di Candi Borobudur pada Sisi Utara dan Selatan Lorong 2. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya*, 7(1), 60–65. <https://doi.org/10.33374/jurnalkonservasicagarbudaya.v7i1.107>
- Rachmi, W., Zamri, A., & Yuharmen. (2014). Perbandingan Isolasi inyak atsiri Biji Pala (Myristica fragrans Houtt) Cara Hidrodistilasi Microwave dan Konvensional serta Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan. *Jom Fmipa*, 1(2), 335–343.
- Rai, M., Paralikar, P., Jogee, P., Agarkar, G., Ingle, A. P., Derita, M., & Zacchino, S. (2017). Synergistic antimicrobial potential of essential oils in combination with nanoparticles: Emerging trends and future perspectives. *International Journal of Pharmaceutics*, 519(1–2), 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.01.013>
- Rassem, H., Nour, A., & R. M., Y. (2016). Techniques For Extraction of Essential Oils From Plants: A Review. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 10(16), 117–127.
- Reichling, J., & Suschke, U. (2009). *Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial , Antifungal , Antiviral , and Cytotoxic Properties – an Overview*. 79–90. <https://doi.org/10.1159/000207196>

- Rachmi, W., Zamri, A., & Yuharmen. (2014). Perbandingan Isolasi inyak Atsiri Biji Pala (*Myristica fragrans* Houtt) Cara Hidrodistilasi Microwave dan Konvensional serta Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan. *Jom Fmipa*, *1*(2), 335–343.
- Riyanto, R., Untari, D. T., & Cahyandaru, N. (2016). Isolation and Application of the Lemongrass Essential Oil of *Cymbopogon Nardus* L.as a Growth Inhibitor of Lichens on Stone Cultural Heritage. *IOSR Journal of Applied Chemistry*, *09*(09), 109–117. <https://doi.org/10.9790/5736-090902109117>
- Riyanto, Umayah, S., & Marhaendro, P. (2021). The uniqueness of isolation of nutmeg essential oil from nutmeg seeds (*Myristica fragrans* houtt.) and its effects on physical and chemical properties. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, *12*(2), 247–255.
- Rodrigues, A. G., Ping, L. Y., Marcato, P. D., Alves, O. L., Silva, M. C. P., Ruiz, R. C., Melo, I. S., Tasic, L., & De Souza, A. O. (2013). Biogenic antimicrobial silver nanoparticles produced by fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *97*(2), 775–782. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4209-7>
- Roziaty, E. (2016). Lichen : Karakteristik Anatomis Dan Reproduksi Vegetatifnya. *Jurnal Pena Sains*, *3*(1), 44–53.
- Rumopa, P. M. E., Awaloei, H., & Mambo, C. (2016). Uji daya hambat ekstrak biji pala (*myristicae fragrans*)terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* dan *streptococcus pyogenes*. *Jurnal E-Biomedik*, *4*(2), 2–6. <https://doi.org/10.35790/ebm.4.2.2016.14655>
- S. Ibrahim, S. (2020). Essential Oil Nanoformulations as a Novel Method for Insect Pest Control in Horticulture. *Horticultural Crops*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.80747>
- Sadjadi, M. A. S., Sadeghi, B., Meskinfam, M., Zare, K., & Azizian, J. (2008). *Synthesis and characterization of Ag / PVA nanorods by chemical reduction method*. *40*, 3183–3186. <https://doi.org/10.1016/j.physe.2008.05.010>
- Sahil, K., Prashant, B., Akanksha, M., Premjeet, S., & Devashish, R. (2011). Gas Chromatography-Mass Spectrometry: Applications. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, *2*(6), 1544–1560. <http://www.ijpba.info/ijpba/index.php/ijpba/article/view/464/314>
- Saion, E., Gharibshahi, E., & Naghavi, K. (2013). Size-controlled and optical properties of monodispersed silver nanoparticles synthesized by the radiolytic reduction method. *International Journal of Molecular Sciences*, *14*(4), 7880–7896. <https://doi.org/10.3390/ijms14047880>
- Sana, S. S., Li, H., Zhang, Z., Sharma, M., Usmani, Z., Hou, T., Netala, V. R.,

- Wang, X., & Gupta, V. K. (2021). Recent advances in essential oils-based metal nanoparticles: A review on recent developments and biopharmaceutical applications. *Journal of Molecular Liquids*, 333, 115951. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.115951>
- Shaaban, H. A. E., El-Ghorab, A. H., & Shibamoto, T. (2012). Bioactivity of essential oils and their volatile aroma components: Review. *Journal of Essential Oil Research*, 24(2), 203–212. <https://doi.org/10.1080/10412905.2012.659528>
- Sharma, G., Sharma, A. R., Kurian, M., Bhavesh, R., Nam, J. S., & Lee, S. S. (2014). Green synthesis of silver nanoparticle using *Myristica fragrans* (nutmeg) seed extract and its biological activity. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 9(1), 325–332.
- Shekarforoush, S. S., Nazer, A. H. K., Firouzi, R., & Rostami, M. (2007). Effects of storage temperatures and essential oils of oregano and nutmeg on the growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 in barbecued chicken used in Iran. *Food Control*. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.10.006>
- Shinkai, M., Yanase, M., Suzuki, M., Hiroyuki Honda, Wakabayashi, T., Yoshida, J., & Kobayashi, T. (1999). Intracellular hyperthermia for cancer using magnetite cationic liposomes. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 194(1), 176–184. [https://doi.org/10.1016/S0304-8853\(98\)00586-1](https://doi.org/10.1016/S0304-8853(98)00586-1)
- Šileikaitė, A., Prosyčėvas, I., Puišo, J., Juraitis, A., & Guobienė, A. (2006). Analysis of Silver Nanoparticles Produced by Chemical Reduction of Silver Salt Solution. *Materials Science (Medžiagotyra)*, 12(4), 1392–1320.
- Somesh Mehra, Rupali Srivastave, Swati Shula, Jose Mathew, M. M. (2015). Australian Journal of Basic and Applied Sciences In-vitro Comparative Study on Antimicrobial Activity of five Extract of Few Citrus Fruit : Peel & Pulp vs Gentamicin. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 9(January), 165–173.
- Stringer, R., & Stringer, R. (2000). *Management*.
- Suciati, A., Wardiyanto, W., & Sumino, S. (2012). Efektifitas Ekstrak Daun *Rhizophora mucronata* Dalam Menghambat Pertumbuhan *Aeromonas salmonicida* Dan *Vibrio harveyi*. *E-Jurnal Rekayasa Dan Teknologi Budidaya Perairan*, 1(1), 1–8. <https://doi.org/10.23960/jrtbp.v1i1.98p1-8>
- Sudradjat, S. E., Timotius, K. H., Mun'im, A., & Anwar, E. (2018). The Isolation of myristicin from nutmeg oil by sequences distillation. *Journal of Young Pharmacists*, 10(1), 20–23. <https://doi.org/10.5530/jyp.2018.10.6>
- Tan, K. P., Khoo, H. E., & Azrina, A. (2013). Comparison of antioxidant

- components and antioxidant capacity in different parts of nutmeg (*Myristica fragrans*). *International Food Research Journal*, 20(3), 1049–1052.
- Taylor, P. (1980). *Molecular Physics: An International Journal at the Interface Between Chemistry and Physics*. January 2014, 37–41.
- Titus, D., James Jebaseelan Samuel, E., & Roopan, S. M. (2019). Nanoparticle characterization techniques. In *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102579-6.00012-5>
- Umoren, S. A., Obot, I. B., & Gasem, Z. M. (2014). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using red apple (*malus domestica*) fruit extract at room temperature. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5(3), 907–914.
- Vaidyanathan, R., Kalishwaralal, K., Gopalram, S., & Gurunathan, S. (2009). Nanosilver-The burgeoning therapeutic molecule and its green synthesis. *Biotechnology Advances*, 27(6), 924–937. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.08.001>
- Vijayashree, I. S., Yallappa, S., Niranjana, P., & Manjanna, J. (2014). Microwave assisted synthesis of stable biofunctionalized silver nanoparticles using apple fruit (*Malus domestica*) extract. *Advanced Materials Letters*, 5(10), 598–603. <https://doi.org/10.5185/amlett.2014.5680>
- Valente, V. M. M., Jham, G. N., Jardim, C. M., Dhingra, O. D., & Ghiviriga, I. (2014). Major Antifungals in Nutmeg Essential Oil against *Aspergillus flavus* and *A. ochraceus*. *Journal of Food Research*, 4(1), 51. <https://doi.org/10.5539/jfr.v4n1p51>
- Verma, A., & Mehata, M. S. (2016). Controllable synthesis of silver nanoparticles using Neem leaves and their antimicrobial activity. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9(1), 109–115. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2015.11.001>
- Wahyudi, T., Sugiyana, D., & Helmy, Q. (2011). Sintesis nanopartikel perak dan uji aktivitas terhadap bakteri *e.coli* DAN *S. aureus*. *Arena Tekstil*, 26(1). <https://doi.org/10.31266/at.v26i1.1442>
- Workshop, E., & Guide, F. (n.d.). a Guide To Twelve Conspicuous Lichens of Georgia ' *S. Algae*.
- Yadav, S., Thakur, R., Georgiev, P., Deivasigamani, S., Krishnan, H., Ratnaparkhi, G., & Raghu, P. (2018). RDGB $\alpha$  localization and function at membrane contact sites is regulated by FFAT-VAP interactions. *Journal of Cell Science*, 131(1). <https://doi.org/10.1242/jcs.207985>

Zhang, H. L. A., & Sui, L. (2015). *Hyaluronan / Tween 80-assisted synthesis of silver nanoparticles for biological application.*  
<https://doi.org/10.1007/s11051-015-290>

## DAFTAR LAMPIRAN

### Lampiran 1. Perhitungan

#### 1). Perhitungan Sintesis AgNPs

$$\begin{aligned} 10 \text{ mM} &= 10 \text{ mL} & \text{gram} &= n \times \text{Mr} \\ \text{mol} &= M.V & &= 1.10^{-4} \times 170 \\ &= 0.01 \times 0,010 & &= 0,017 \text{ gram} \\ &= 1 \times 10^{-4} \text{ mol} & & \end{aligned}$$

#### 2). Variasi Waktu AgNPs

##### a) Konsentrasi Ag 10 Mm dalam 10 mL minyak atsiri biji pala

$$\begin{aligned} 10 \text{ mM} &= 10 \text{ mL} & \text{gram} &= n \times \text{Mr} \\ \text{mol} &= M.V & &= 1.10^{-4} \times 170 \\ &= 0.01 \times 0,010 & &= 0,017 \text{ gram} \\ &= 1 \times 10^{-4} \text{ mol} & & \end{aligned}$$

#### 2). Variasi Konsentrasi AgNPs

##### a) Konsentrasi Ag 1 Mm dalam 10 mL minyak atsiri biji pala

$$\begin{aligned} 1 \text{ mM} &= \text{mol} = M.V & \text{gram} &= n \times \text{Mr} \\ &= 0.001 \times 0,010 & &= 1 \times 10^{-5} \times 170 \\ &= 1 \times 10^{-5} \text{ mol} & &= 0,0017 \text{ gram} \end{aligned}$$

##### b) Konsentrasi Ag 3,5 Mm dalam 10 mL minyak atsiri biji pala

$$\begin{aligned} 3,5 \text{ mM} &= \text{mol} = M.V & \text{gram} &= n \times \text{Mr} \\ &= 0.0035 \times 0,010 & &= 3,5 \times 10^{-5} \times 170 \\ &= 3,5 \times 10^{-5} \text{ mol} & &= 0,0059 \text{ gram} \end{aligned}$$

##### c) Konsentrasi Ag 5 Mm dalam 10 mL minyak atsiri biji pala

$$\begin{aligned} 5 \text{ mM} &= \text{mol} = M.V & \text{gram} &= n \times \text{Mr} \\ &= 0.005 \times 0,010 & &= 5 \times 10^{-5} \times 170 \\ &= 5 \times 10^{-5} \text{ mol} & &= 0,0085 \text{ gram} \end{aligned}$$

##### d) Konsentrasi Ag 7,5 Mm dalam 10 mL minyak atsiri biji pala

$$\begin{aligned} 7,5 \text{ mM} &= \text{mol} = M.V & \text{gram} &= n \times \text{Mr} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= 0.0075 \times 0,010 & &= 7,5 \times 10^{-5} \times 170 \\
 &= 7,5 \times 10^{-5} \text{ mol} & &= 0,0127 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

**e) Konsentrasi Ag 1,0 Mm dalam 10 mL minyak atsiri biji pala**

$$\begin{aligned}
 10 \text{ mM} &= 10 \text{ mL} & \text{gram} &= n \times \text{Mr} \\
 \text{mol} &= \text{M.V} & &= 1 \times 10^{-4} \times 170 \\
 &= 0.01 \times 0,010 & &= 0,017 \text{ gram} \\
 &= 1 \times 10^{-4} \text{ mol}
 \end{aligned}$$

**3). Penambahan Tween 80 pada Ukuran Partikel**

**a) Konsentrasi Ag 0,2 Mm dalam 10 mL minyak atsiri biji pala**

$$\begin{aligned}
 10 \text{ mM} &= 10 \text{ mL} & \text{gram} &= n \times \text{Mr} \\
 \text{mol} &= \text{M.V} & &= 2 \times 10^{-6} \times 170 \\
 &= 0.0002 \times 0,010 & &= 0,0001 \text{ gram} \\
 &= 2 \times 10^{-6} \text{ mol}
 \end{aligned}$$

**b) Konsentrasi Ag 0,4 Mm dalam 10 mL minyak atsiri biji pala**

$$\begin{aligned}
 10 \text{ mM} &= 10 \text{ mL} & \text{gram} &= n \times \text{Mr} \\
 \text{mol} &= \text{M.V} & &= 4 \times 10^{-6} \times 170 \\
 &= 0.0004 \times 0,010 & &= 0,0005 \text{ gram} \\
 &= 4 \times 10^{-6} \text{ mol}
 \end{aligned}$$

**c) Konsentrasi Ag 0,6 Mm dalam 10 mL minyak atsiri biji pala**

$$\begin{aligned}
 10 \text{ mM} &= 10 \text{ mL} & \text{gram} &= n \times \text{Mr} \\
 \text{mol} &= \text{M.V} & &= 6 \times 10^{-6} \times 170 \\
 &= 0.0006 \times 0,010 & &= 0,0010 \text{ gram} \\
 &= 6 \times 10^{-6} \text{ mol}
 \end{aligned}$$

**d). Konsentrasi Ag 0,8 Mm dalam 10 mL minyak atsiri biji pala**

$$\begin{aligned}
 10 \text{ mM} &= 10 \text{ mL} & \text{gram} &= n \times \text{Mr} \\
 \text{mol} &= \text{M.V} & &= 8 \times 10^{-6} \times 170 \\
 &= 0.0008 \times 0,010 & &= 0,0013 \text{ gram} \\
 &= 8 \times 10^{-6} \text{ mol}
 \end{aligned}$$

**e). Konsentrasi Ag 1,0 Mm dalam 10 mL minyak atsiri biji pala**

$$10 \text{ mM} = 10 \text{ mL}$$

$$\text{mol} = M.V$$

$$= 0.01 \times 0,010$$

$$= 1 \times 10^{-4} \text{ mol}$$

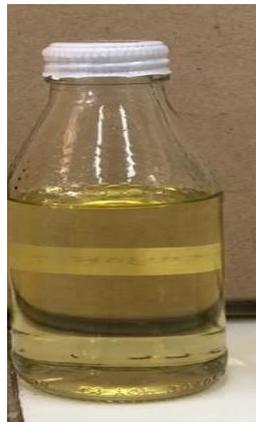
$$\text{gram} = n \times Mr$$

$$= 1 \times 10^{-4} \times 170$$

$$= 0,017 \text{ gram}$$

**Lampiran 2. Dokumentasi proses pembuatan nanopartikel perak**

**A. Minyak atsiri biji pala**



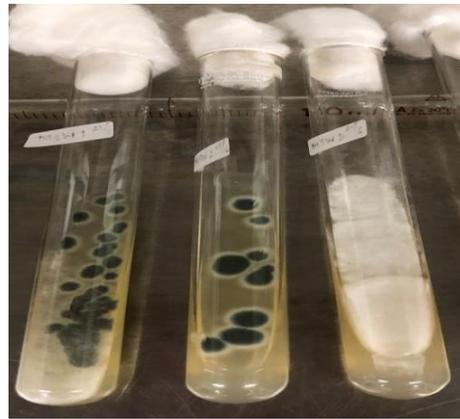
**C. Proses penanaman lichen**

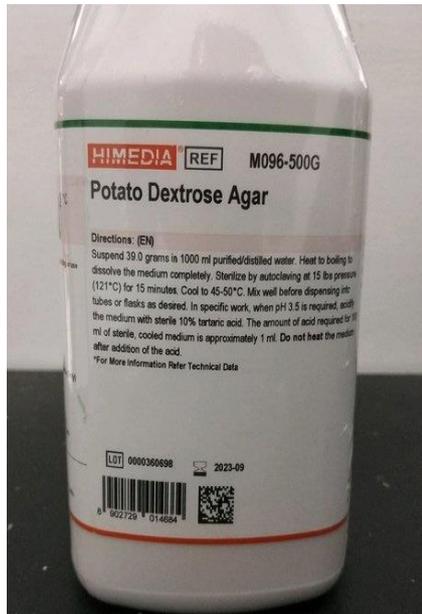


**B. Sterilisasi Media Agar**



**D. Stok Lichen**





E. Media PDA



F. Pembuatan Medium

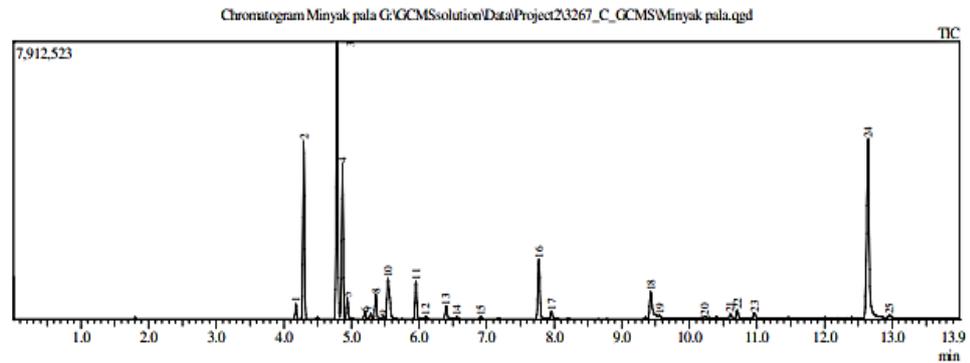


G. Autoclav



H. Sentrifugasi

### LAMPIRAN 3. KROMATOGRAM GC MINYAK ATSIRI SERAI WANGI



Peak Report TIC						
Peak#	R.Time	L.Time	F.Time	Area	Area%	Height
1	4.180	4.140	4.225	670891	1.12	438532
2	4.296	4.255	4.355	7938845	13.28	5069980
3	4.789	4.740	4.830	13455965	22.51	7889181
4	4.868	4.830	4.910	7215358	12.07	4404124
5	4.942	4.910	5.010	1027348	1.72	611142
6	5.198	5.160	5.245	344507	0.58	200464
7	5.287	5.245	5.325	313071	0.52	182902
8	5.362	5.325	5.410	1193582	2.00	690404
9	5.472	5.410	5.500	160890	0.27	89667
10	5.539	5.500	5.635	3134669	5.24	1146204
11	5.955	5.910	6.020	1966602	3.29	1089728
12	6.098	6.020	6.135	164550	0.28	85160
13	6.402	6.355	6.465	740675	1.24	375717
14	6.564	6.530	6.610	132230	0.22	64794
15	6.914	6.875	6.960	132458	0.22	67874
16	7.775	7.720	7.845	3326759	5.56	1699435
17	7.959	7.920	8.010	426999	0.71	212002
18	9.427	9.380	9.535	2267843	3.79	761896
19	9.565	9.535	9.605	157221	0.26	61120
20	10.230	10.205	10.265	164295	0.27	83763
21	10.608	10.565	10.665	335470	0.56	142992
22	10.710	10.665	10.760	495206	0.83	241170
23	10.959	10.915	11.030	435232	0.73	164112
24	12.643	12.575	12.800	13353349	22.34	5101586
25	12.958	12.915	13.045	227442	0.38	82291
				59781457	100.00	30956240

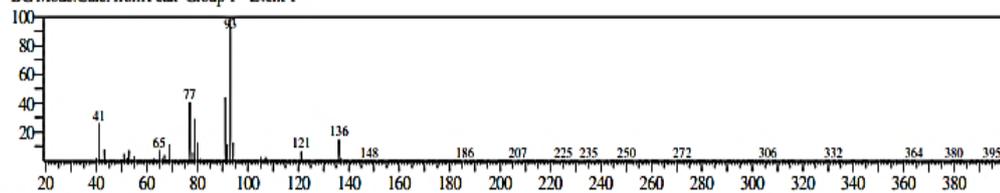
## Lampiran 4

Hasil MS dari minyak biji pala dengan 4 kandungan senyawa tertinggi

### 1. Sabinene

<< Target >>

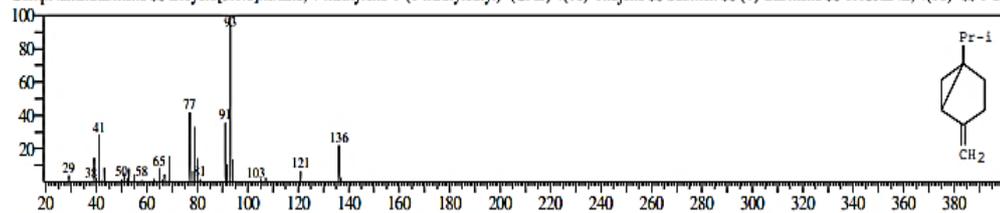
Line#:3 R.Time:4.790(Scan#:959) MassPeaks:258  
RawMode:Averaged 4.785-4.795(958-960) BasePeak:93.05(1911951)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:26425 Library:WILEY7.LIB

SI:97 Formula:C10 H16 CAS:3387-41-5 MolWeight:136 RetIndex:0

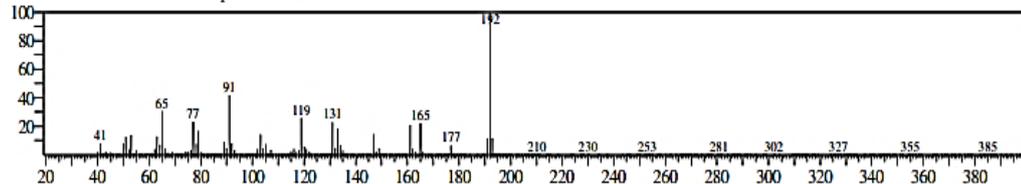
CompName:Sabinene \$\$ Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4(10)-Thujene \$\$ Sabinen \$\$ (+)-Sabinene \$\$ THUJENE, 4(10)- \$\$ 1-Is



### 2. Myristicin

<< Target >>

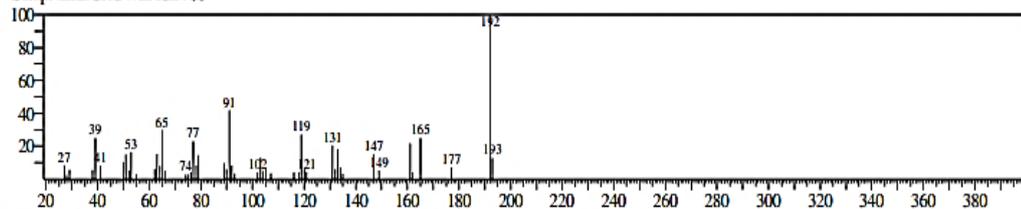
Line#:24 R.Time:12.645(Scan#:2530) MassPeaks:283  
RawMode:Averaged 12.640-12.650(2529-2531) BasePeak:192.00(780983)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:84555 Library:WILEY7.LIB

SI:96 Formula:C11 H12 O3 CAS:484-34-4 MolWeight:192 RetIndex:0

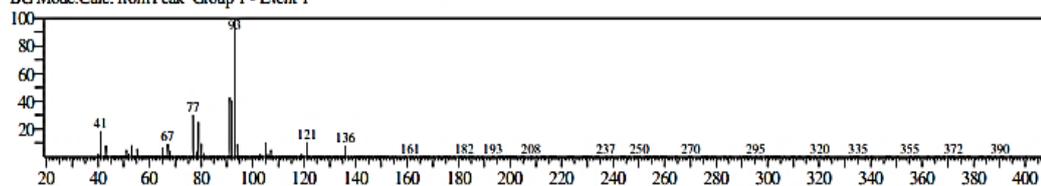
CompName:CROWEACIN \$\$



### 3. Alpha pinene

<< Target >>

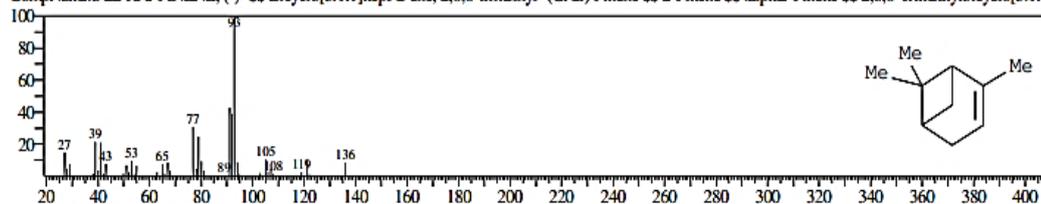
Line#:2 R.Time:4.295(Scan#:860) MassPeaks:246  
RawMode:Averaged 4.290-4.300(859-861) BasePeak:93.05(1184631)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:26444 Library:WILEY7.LIB

SI:99 Formula:C10 H16 CAS:80-56-8 MolWeight:136 RetIndex:0

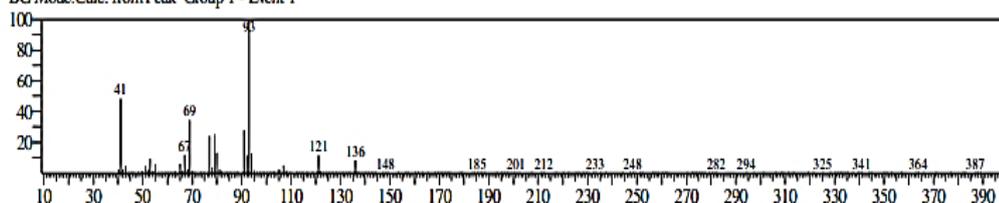
CompName:ALPHA-PINENE, (-) SS Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- (CAS) Pinene SS 2-Pinene SS alpha-Pinene SS 2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]



### 4. B-pinene

<< Target >>

Line#:4 R.Time:4.870(Scan#:975) MassPeaks:213  
RawMode:Averaged 4.865-4.875(974-976) BasePeak:93.05(994256)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:26459 Library:WILEY7.LIB

SI:97 Formula:C10 H16 CAS:18172-67-3 MolWeight:136 RetIndex:0

CompName:1-beta-Pinene SS Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S)- (CAS) .BETA-PINENE SS (-)-2(10)-Pinene SS (-)-beta-Pinene SS 2(10

