

4. PEMBAHASAN

4.1. Sintesis Nanopartikel

4.1.1. Metode Sintesis Nanopartikel Berbasis *Herbs and Spices*

4.1.1.1. *Green Synthesis*

4.1.1.1.1. Kelebihan dan Kekurangan *Green Synthesis*

Green synthesis yang termasuk ke dalam pendekatan *bottom-up* memiliki kelebihan seperti tingkat kegagalannya yang kecil, biaya yang rendah, dan kemudahan dalam karakterisasi. Ion logam yang direduksi dengan ekstrak tumbuhan memiliki waktu reaksi yang dapat selesai dalam beberapa menit hingga beberapa jam pada suhu kamar biasa. Penggunaan ekstrak tumbuhan juga dapat mengurangi aktivitas reaksi yang tidak diinginkan dan menurunkan tingkat toksisitas partikel akibat dari penggunaan pelarut kimia (Gour & Jain, 2019). Dari kelebihan-kelebihan yang dimiliki *green synthesis*, metode tersebut juga memiliki kekurangan. Penelitian yang dilakukan oleh Taba *et al.* (2019) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dari nanopartikel perak yang disintesis dengan ekstrak daun salam menggunakan *green synthesis* lebih rendah dari aktivitas antioksidan ekstrak daun salam. Nilai IC_{50} dari nanopartikel perak yang disintesis juga menunjukkan bahwa nanopartikel tersebut termasuk sampel dengan daya antioksidan sangat lemah, sedangkan daya antioksidan dari ekstrak daun salam tergolong sedang. Hal tersebut disebabkan karena ekstrak daun salam masih memiliki lebih banyak senyawa antioksidan seperti saponin, alkaloid, steroid, dan flavonoid, sedangkan nanopartikel perak dari hasil sintesis dengan ukuran yang cukup besar dan mendapatkan gugus fungsi tertentu menyebabkan nilai aktivitas antioksidan dari hasil uji menunjukkan aktivitas yang sangat lemah. Dari hal tersebut dapat diketahui bahwa formulasi nanopartikel perlu diperhatikan untuk mendapatkan sifat fungsional yang maksimal.

4.1.1.1.2. Variasi Metode *Green Synthesis*

Berdasarkan Tabel 6, ada beberapa jenis proses *green synthesis* yang dapat digunakan yaitu pengadukan, inkubasi di tempat gelap, dan iradiasi sinar matahari. Menurut Rajesh *et al.* (2018), proses pengadukan dilakukan dengan *magnetic stirrer*. Larutan tembaga asetat yang telah disiapkan dalam bejana reaksi volume 100 mL pada suhu 30°C ditambahkan dengan 10 mL larutan ekstrak cengkeh dan dicampur dengan *magnetic stirrer* selama 15 menit. Dalam 10-15 menit, larutan warna biru berubah menjadi warna hijau kebiruan pucat karena pembentukan nanopartikel tembaga. Nanopartikel yang diperoleh dimurnikan dengan sentrifugasi pada 10.000 rpm selama 10 menit, dan pelet yang dihasilkan didispersikan kembali dalam air untuk studi lebih lanjut. Dari proses analisis menggunakan *X-ray diffraction* (XRD) didapatkan rata-rata ukuran partikel sebesar 12 nm. Hal tersebut menunjukkan bahwa proses sintesis yang sebelumnya dilakukan telah berhasil untuk membentuk nanopartikel.

Menurut Vijayakumar *et al.* (2021), inkubasi di tempat gelap juga dapat memicu proses reduksi dan pembentukan nanopartikel. Rempah yang digunakan seperti pekak, pala, dan *mace* dikeringkan pada suhu 45°C dalam inkubator dan Rempah dihancurkan menjadi partikel halus menggunakan penggiling dalam kondisi gelap, dengan suhu dalam ruangan (35°C), ditempatkan ke dalam wadah, dan wadah disegel. Sebanyak 5 g setiap rempah dilarutkan dalam 50 mL air dan dipanaskan dalam *heating mantle* pada 60-80°C selama 20 menit lalu disaring. Masing-masing ekstrak rempah diberi 0,5 M larutan tembaga sulfat dengan perbandingan 1:1 dan disimpan di tempat gelap pada suhu 37°C selama 24 jam. Perubahan warna larutan dari hijau kebiruan menjadi merah kecokelatan menunjukkan terbentuknya nanopartikel. Hasil analisis FESEM menunjukkan bahwa partikel yang dihasilkan memiliki diameter sebesar 50-70 nm. Dengan demikian, proses sintesis berhasil membentuk nanopartikel.

Penelitian oleh Mohapatra *et al.* (2018) menyatakan bahwa sinar matahari juga dapat membantu proses sintesis nanopartikel. Dalam prosesnya, nanopartikel

perak disintesis dengan menambahkan AgNO_3 yang berbeda konsentrasi (0,625 mM, 1,25 mM, dan 2,5 mM) ke 0,5 mL ekstrak jahe dengan konsentrasi 12,5 mg/mL pada suhu kamar. Setelah itu, penyinaran sinar matahari dilakukan selama 5–20 menit. Selama proses penyinaran, larutan mengalami perubahan dari yang semula berwarna kekuningan lalu menjadi kuning tua, kecoklatan, dan terakhir menjadi coklat kemerahan. Perubahan warna tersebut menunjukkan proses pembentukan nanopartikel yang sedang berlangsung. Dari hasil analisis FESEM menunjukkan bahwa ukuran rata-rata partikel yang dihasilkan sebesar 17 nm. Hal tersebut membuktikan bahwa proses sintesis nanopartikel berhasil.

Penelitian yang dilakukan Vijayakumar *et al.* (2021) dan Mohapatra *et al.* (2018) menunjukkan bahwa sintesis nanopartikel dapat dilakukan dalam kondisi gelap maupun tidak. Namun berdasarkan Tabel 6, bila dibandingkan penggunaan waktunya, proses inkubasi di tempat gelap membutuhkan waktu lebih lama daripada proses iradiasi dengan sinar matahari. Menurut Mohapatra *et al.* (2018), iradiasi dengan sinar matahari dapat meningkatkan laju bioreduksi ion Ag^+ dengan biomolekul ekstrak *herbs and spices* yang digunakan, sehingga dapat mempersingkat waktu sintesis.

4.1.1.2. Iradiasi Microwave

4.1.1.2.1. Penggunaan Microwave dalam Sintesis Nanopartikel

Pada penerapannya dalam proses sintesis nanopartikel, iradiasi *microwave* akan memicu efek pelepasan panas. Misalnya, efek yang paling banyak timbul dalam sintesis organik adalah polarisasi dielektrik. Gelombang mikro atau *microwave* dapat menginduksi rotasi molekul polar dan terjadi tumbukan antar molekul. Pada zat yang dipanaskan akan terjadi redistribusi energi, yang secara teknis dapat disebut pemanasan *in situ*. Pemanasan *in situ* dapat menimbulkan distribusi panas yang seragam (Savitskaya *et al.*, 2021). Dalam penelitian yang dilakukan Vijaya *et al.* (2017), sampel perak nitrat dan ekstrak jahe diproses dengan *microwave* selama 1 menit dengan frekuensi 50 Hz, sedangkan dalam penelitian yang

dilakukan Jayarambabu *et al.* (2019), iradiasi dilakukan selama 3 menit dengan frekuensi 2,450 GHz.

4.1.1.2.2. Kelebihan dan Kekurangan Iradiasi *Microwave*

Penerapan iradiasi *microwave* yang termasuk dalam pendekatan *bottom-up* memiliki kelebihan tertentu, seperti mencegah panas berlebih di tempat tertentu dan mengurangi pembentukan produk sampingan yang tidak diinginkan karena pemanasan yang terjadi secara *in situ* (Savitskaya *et al.*, 2021). Sintesis nanopartikel yang dilakukan dengan iradiasi gelombang mikro dapat memiliki waktu reaksi yang sangat singkat dan lapisan *coating* pada partikel yang disintesis menjadi lebih seragam dibandingkan dengan metode konvensional (Bahadur *et al.*, 2011). Menurut Vijaya *et al.* (2017), sintesis nanopartikel perak dapat dilakukan menggunakan ekstrak dari jahe dengan keuntungan tidak memerlukan tambahan *capping*, sederhana, hemat biaya, dan ramah lingkungan. Selain kelebihan, iradiasi *microwave* juga memiliki kekurangan. Penelitian yang dilakukan oleh Hasanpoor *et al.* (2015) membuktikan bahwa perubahan daya dan waktu iradiasi *microwave* dapat menyebabkan morfologi dari nanopartikel ZnO menjadi berbeda-beda, sehingga perlu digunakan frekuensi gelombang yang tepat untuk mendapatkan morfologi nanopartikel yang diinginkan.

4.1.1.3. Ultrasonikasi

4.1.1.3.1. Penggunaan Ultrasonikasi dalam Sintesis Nanopartikel

Penggunaan ultrasonikasi berperan penting dalam pembentukan nanopartikel, atau lebih tepatnya dalam proses memperkecil ukuran sampel (pendekatan *top-down*). Penelitian yang dilakukan oleh No *et al.* (2017) menggunakan sonikator 20 kHz dengan *enhanced horn microtip* (diameter 3 mm, suhu konstan, amplitudo 70%, interval *pulse-on* 90 detik, dan 30 detik *off interval* dengan total waktu 4 menit) dalam melakukan proses *size reduction* dari campuran suspensi kurkumin dan surfaktan. Karimi *et al.* (2019) juga menyebutkan bahwa dengan perlakuan sampel dengan ultrasonikasi, diameter partikel rata-rata berkurang secara signifikan dan rentang distribusi partikel yang dihasilkan secara signifikan

menyempit. Dari hal tersebut, bisa dikatakan bahwa proses ultrasonikasi memegang peran penting dalam membentuk partikel sampel menjadi ukuran nano.

4.1.1.3.2. Kelebihan dan Kekurangan Ultrasonikasi

Menurut Karimi *et al.* (2019) dan No *et al.* (2017), ultrasonikasi merupakan proses utama dalam pembentukan ukuran nano dari sampel yang diproses. Namun, dari proses tersebut dapat timbul suatu kekurangan. Jika nanopartikel dapat larut secara signifikan selama proses ultrasonikasi, suspensi akhir akan menjadi larutan kompleks yang mengandung nanopartikel dan logam yang dilepaskan dari nanopartikel. Hal tersebut dapat memengaruhi respon toksikologi pada partikel tertentu (Pradhan *et al.*, 2016). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut agar dapat menemukan pengaturan yang tepat dalam penggunaan ultrasonikasi dalam sintesis nanopartikel.

4.1.1.3.3. Kombinasi Ultrasonikasi dengan *High Shear Homogenization*

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Karimi *et al.* (2019), proses pengecilan partikel dengan ultrasonikasi dapat dikombinasikan dengan metode *high shear homogenization*. Metode tersebut dilakukan sebelum proses ultrasonikasi selama 15 menit pada kecepatan 20.000 rpm dan suhu antara 50-60°C. Menurut Karimi *et al.* (2019), *high shear homogenization* dapat mengecilkan ukuran liposom yang telah terbentuk sebelumnya ke skala nano. Hal tersebut sesuai dengan hasil nanopartikel yang memiliki diameter berkisar antara 74-101 nm berdasarkan analisis dengan *Scanning Electron Microscopy* (SEM).

4.1.2. Penggunaan Senyawa Logam dan Nonlogam dalam Sintesis Nanopartikel

Dalam sintesis nanopartikel, penggunaan senyawa logam dan nonlogam mempunyai tujuan yang spesifik. Sifat antibakteri nanopartikel yang menggunakan logam perak dapat timbul dari proses oksidasi dan pelepasan ion Ag^+ ke lingkungan, sehingga hasil sintesis nanopartikel memiliki aktivitas

antimikroba. Proses yang menggunakan senyawa logam juga dapat menghasilkan ukuran partikel yang cenderung kecil (Premkumar *et al.*, 2018). Hal tersebut sesuai dengan jurnal-jurnal yang terdapat pada Tabel 6, yang menunjukkan bahwa nanopartikel terkecil yang dapat disintesis berada pada kisaran $5,28 \pm 1,29$ nm. Nanopartikel tersebut dianalisis dengan *Transmission Electron Microscopy* (TEM) dan dihasilkan dari *green synthesis* yang menggunakan logam perak dalam bentuk AgNO_3 dan ekstrak jahe (Dinda *et al.*, 2020). Kitosan banyak digunakan dalam sintesis nanopartikel karena sifatnya yang dapat digunakan sebagai *carrier* suatu senyawa. Kitosan bersifat *biodegradable* yang dapat digunakan dalam berbagai proses seperti pembentukan emulsi dan pembentukan *film* (Bhoopathy *et al.*, 2021). Selain itu, kitosan juga memiliki sifat yang dapat meningkatkan biokompatibilitas, biodegradabilitas, dan bioaktivitas dari nanopartikel yang disintesis (Alghuthaymi *et al.*, 2021).

4.1.3. Sintesis Nanopartikel Tanpa Senyawa *Template* (Logam dan Nonlogam)

Berdasarkan Tabel 7, penelitian yang dilakukan oleh Khan *et al.* (2021) dan No *et al.* (2019) tidak menggunakan senyawa *template* dalam proses sintesis nanopartikel, baik dengan senyawa logam maupun nonlogam. Namun, dari kedua penelitian tersebut terdapat perbedaan yang cukup jauh pada ukuran nanopartikel hasil sintesis. Dalam penelitian Khan *et al.* (2021) dapat menghasilkan nanopartikel dengan rata-rata ukuran sebesar 42,64 nm, sedangkan dalam penelitian No *et al.* (2019) menghasilkan nanopartikel dengan rentang ukuran 74-101 nm. Perbedaan ukuran nanopartikel tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan perlakuan yang dilakukan oleh kedua peneliti. Khan *et al.* (2021) menggunakan perlakuan campuran dalam kondisi mendidih selama proses ultrasonikasi selama 20 menit dan dalam penelitian yang dilakukan No *et al.* (2019) tidak menggunakan perlakuan suhu secara khusus dan ultrasonikasi hanya berlangsung selama 4 menit. Jadi, perbedaan ukuran nanopartikel hasil sintesis dari kedua penelitian dapat disebabkan oleh perlakuan suhu dan waktu yang berbeda.

4.1.4. Penggunaan *Herbs and Spices* dalam Sintesis Nanopartikel

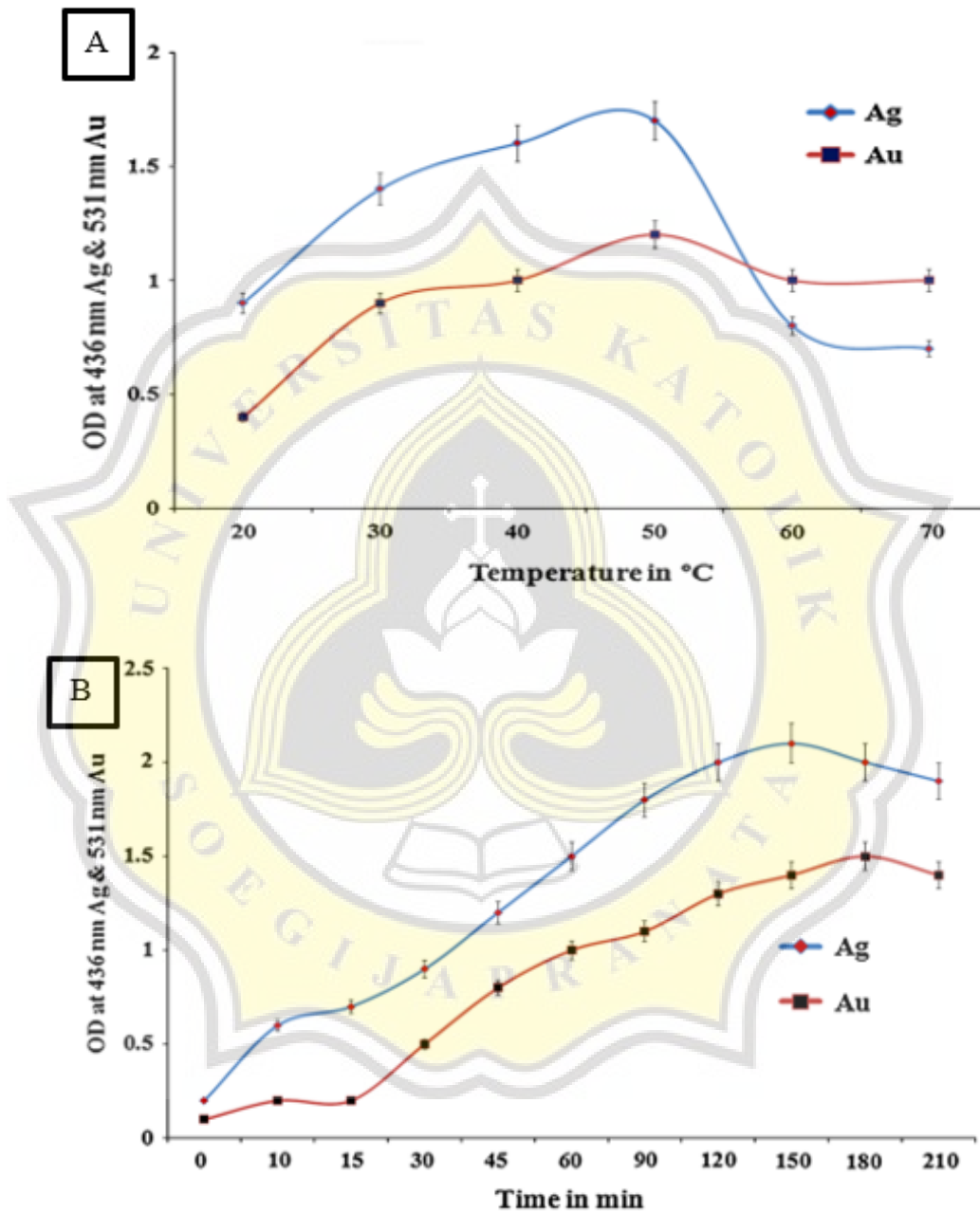
Dalam proses sintesis nanopartikel, *herbs and spices* dapat memiliki peran sebagai reduktor, agen *capping* atau agen penstabil nanopartikel. Menurut Taba *et al.* (2019), analisis nanopartikel perak menggunakan *X-ray Diffraction* (XRD) dapat menunjukkan ion perak yang telah tereduksi dari Ag^+ menjadi Ag^0 . Analisis dengan *Fourier Transform Infrared spectroscopy* (FTIR) dapat mengungkapkan pita serapan dari ikatan tertentu yang menunjukkan konstituen organik dari ekstrak *herbs and spices* pada permukaan nanopartikel hasil biosintesis (Alsammarraie *et al.*, 2018). Hasil penelitian oleh Taba *et al.* (2019) menggunakan FTIR menunjukkan pergeseran spektrum yang dimiliki ekstrak daun salam terjadi pada gugus O-H, C=O, dan C-O. Hal tersebut membuktikan bahwa gugus O-H, C=O, dan C-O berperan dalam proses reduksi logam perak.

Penambahan agen *capping* dalam sintesis nanopartikel bertujuan untuk mencegah terjadinya agregat partikel yang dapat terjadi selama proses sintesis nanopartikel (Velmurugan *et al.*, 2014). Menurut Vijaya *et al.* (2017), dalam analisis FTIR nanopartikel dengan ekstrak jahe yang dibuat dalam penelitiannya, mengungkapkan bahwa senyawa flavonoid dan alkaloid dalam ekstrak jahe merupakan senyawa yang bertindak sebagai agen *capping*.

4.1.5. Pengaruh Suhu dan Waktu dalam Sintesis Nanopartikel

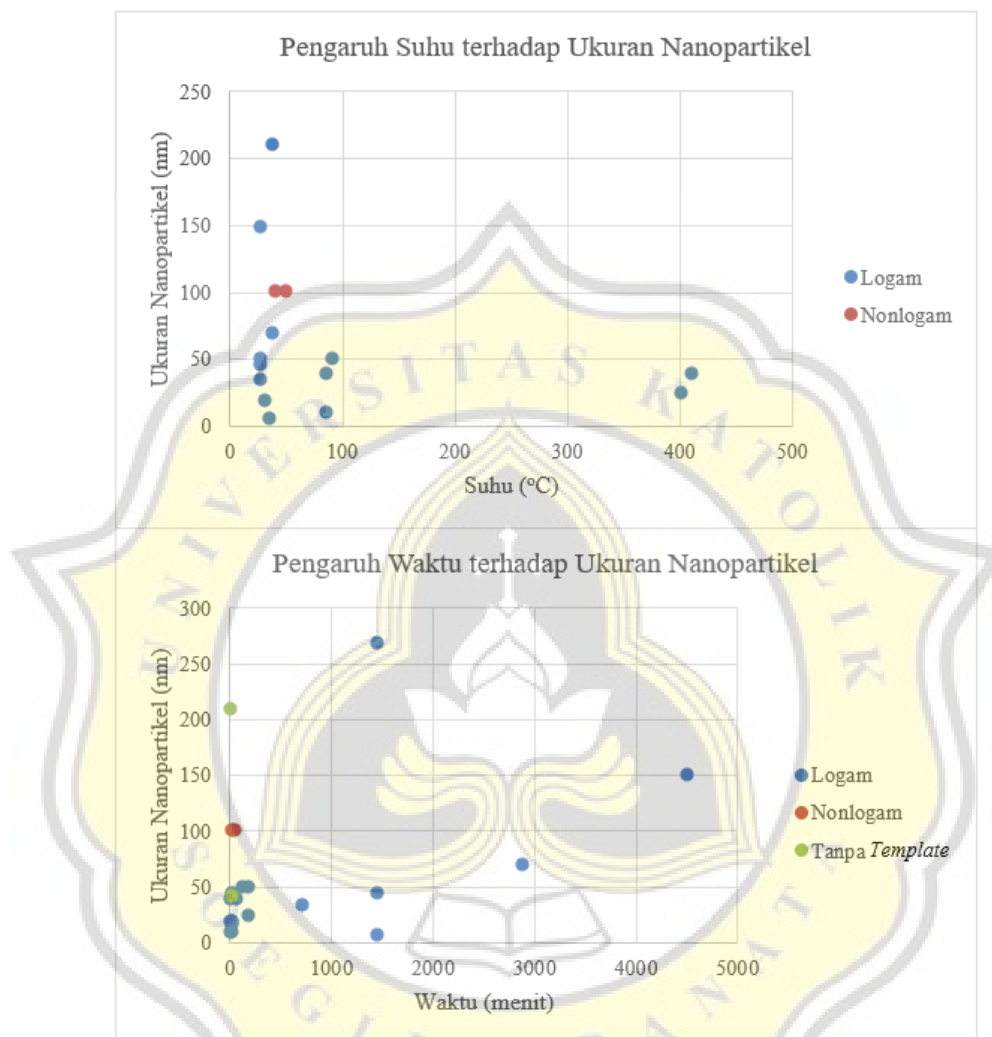
Perlakuan suhu dan waktu dalam penelitian dapat memengaruhi proses dari sintesis nanopartikel. Velmurugan *et al.* (2014) menyatakan bahwa suhu yang semakin tinggi dapat mempercepat proses reduksi. Hal tersebut ditunjukkan pada nilai absorbansi yang meningkat akibat suhu biosintesis atau *green synthesis* nanopartikel perak dan emas yang ditingkatkan dari 20°C menjadi 50°C. Menurut Velmurugan *et al.* (2014), perlakuan waktu yang semakin lama juga dapat meningkatkan nilai absorbansi akibat dari banyaknya nanopartikel yang terbentuk. Hal tersebut ditunjukkan dari nilai yang semakin meningkat dari pengukuran absorbansi pada menit ke-10 perlakuan sampai pada menit ke-150 untuk

nanopartikel perak dan sampai pada menit ke-180 untuk nanopartikel emas. Grafik dari penelitian yang dilakukan dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 7. Grafik (A) Pengaruh Suhu dan (B) Waktu terhadap Absorbansi Nanopartikel

Berdasarkan Tabel 6 dan 7, berikut merupakan *scatter* pengaruh perlakuan suhu dan waktu terhadap ukuran nanopartikel.



Gambar 8. Scatter Pengaruh Suhu dan Waktu terhadap Ukuran Nanopartikel

Scatter pada Gambar 8 membuktikan bahwa dengan suhu yang cenderung rendah (mendekati suhu ruangan) dan waktu yang cenderung singkat, partikel dapat terbentuk di bawah 100 nm. Penelitian yang dilakukan oleh Rajesh *et al.* (2018) membuktikan bahwa dengan perlakuan suhu sebesar 30°C, hasil analisis *Field Emission Scanning Electron Microscope* (FESEM) menunjukkan nanopartikel yang dapat dihasilkan sebesar 20 nm. Sedangkan, hasil analisis *Transmission Electron Microscopy* (TEM) menunjukkan nanopartikel memiliki ukuran 15 nm. Penelitian yang dilakukan oleh Vijaya *et al.* (2017) menunjukkan bahwa dalam

waktu 1 menit, nanopartikel yang terbentuk memiliki ukuran sebesar 10 nm. Hal tersebut memenuhi ciri-ciri nanopartikel menurut US *Environmental Protection Agency* (2007), yang menyebutkan bahwa nanopartikel memiliki ukuran di bawah 1-100 nm.

4.1.6. Perbandingan Penggunaan Metode Sintesis Nanopartikel

Berdasarkan Tabel 6 dan 7, metode *green synthesis* dan iradiasi *microwave* digunakan untuk mensintesis nanopartikel yang menggunakan senyawa logam, sedangkan ultrasonikasi digunakan untuk mensintesis nanopartikel yang menggunakan senyawa nonlogam dengan suhu dan waktu yang sangat bervariasi. Metode sintesis nanopartikel dengan iradiasi *microwave* dan ultrasonikasi memerlukan pelarut dalam prosesnya, sedangkan metode *green synthesis* untuk sintesis nanopartikel dengan senyawa logam tidak menggunakan pelarut jenis tertentu. Hal tersebut sesuai dengan yang disampaikan oleh Savitskaya *et al.* (2021) bahwa dalam metode *green synthesis* tidak memerlukan pelarut karena sudah menggunakan bahan yang dapat mereduksi senyawa logam. Proses reduksi tersebut berasal dari *herbs and spices* yang digunakan dalam penelitian. Menurut Taba *et al.* (2019), ekstrak *herbs and spices* akan mereduksi ion Ag^+ menjadi Ag^0 .

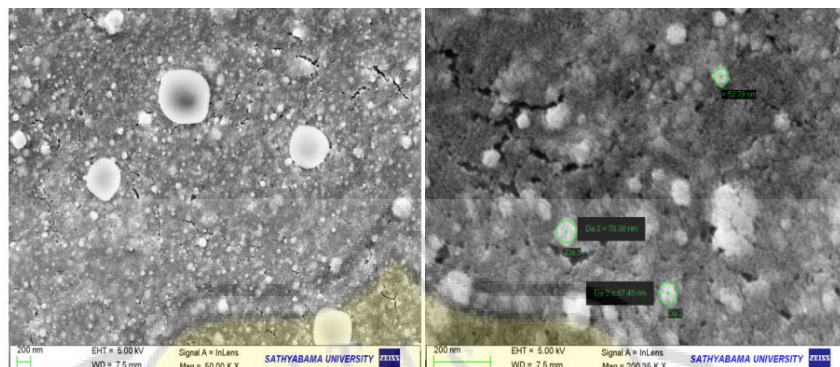
4.1.7. Karakterisasi Ukuran Nanopartikel

Menurut Tabel 6, ada 7 macam metode karakterisasi ukuran nanopartikel yang biasa digunakan. Berikut merupakan penjelasan lebih lanjut dari metode-metode tersebut.

4.1.7.1. Field Emission Scanning Electron Microscope (FESEM)

Gambar 9 merupakan contoh hasil analisis ukuran nanopartikel yang menggunakan FESEM. Menurut gambar tersebut, FESEM dapat menunjukkan nanopartikel yang seragam, memiliki ukuran dalam kisaran 50-70 nm, dan berbentuk cenderung bulat (Premkumar *et al.*, 2018). Sampel yang dianalisis dengan FESEM harus melewati proses pengeringan sampel dan menempatkannya pada *aluminium stub* yang dilapisi dengan pita karbon dua sisi, dan melapisi

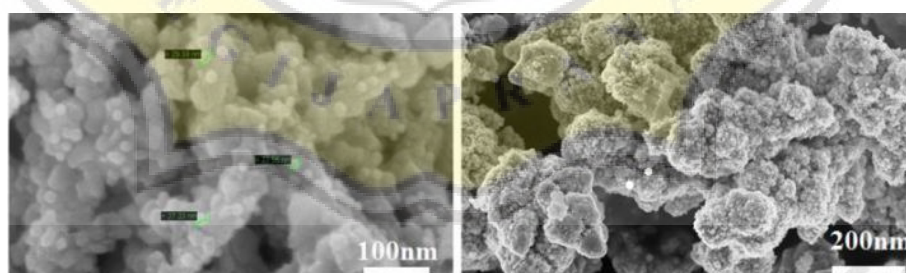
spesimen dengan platinum menggunakan pelapis *sputter* vakum untuk mencegah *surface charging* dan kehilangan resolusi (Marto *et al.*, 2014).



Gambar 9. Hasil Analisis FESEM

4.1.7.2. *High Resolution Field Emission Scanning Electron Microscope (HR-FESEM)*

Gambar 10 menunjukkan contoh hasil analisis dari HR-FESEM. Gambar tersebut menunjukkan sampel ukuran partikel berada dalam kisaran 5-20 nm (Jayarambabu *et al.*, 2019). Untuk analisis nanopartikel, sampel membran diberi perlakuan tekanan di bawah 0,3 MPa dengan gas nitrogen selama 1 jam dikeringkan terlebih dahulu selama 24 jam pada suhu kamar (Coulibaly *et al.*, 2019).

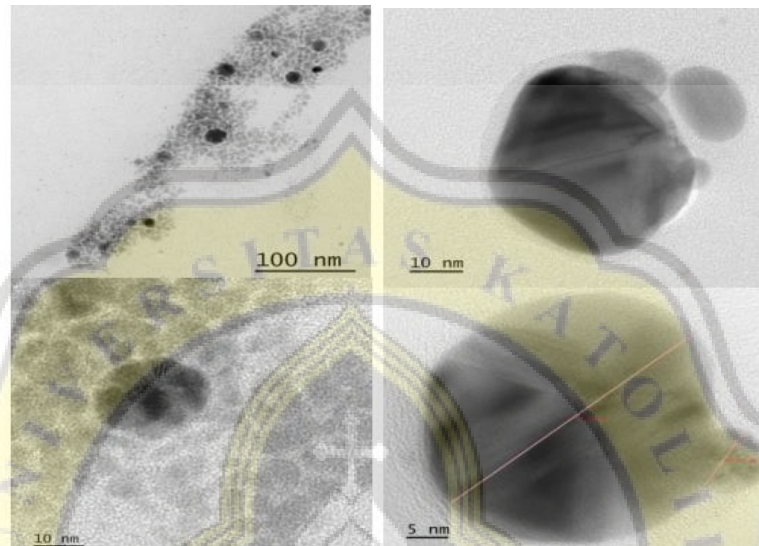


Gambar 10. Hasil Analisis HR-FESEM

4.1.7.3. *Transmission Electron Microscopy (TEM)*

Contoh gambar hasil analisis *Transmission Electron Microscopy (TEM)* dapat dilihat pada Gambar 11. Nanopartikel yang dianalisis terlihat dikelilingi oleh lapisan tipis yang diduga merupakan bahan organik dari ekstrak *herbs and spices*

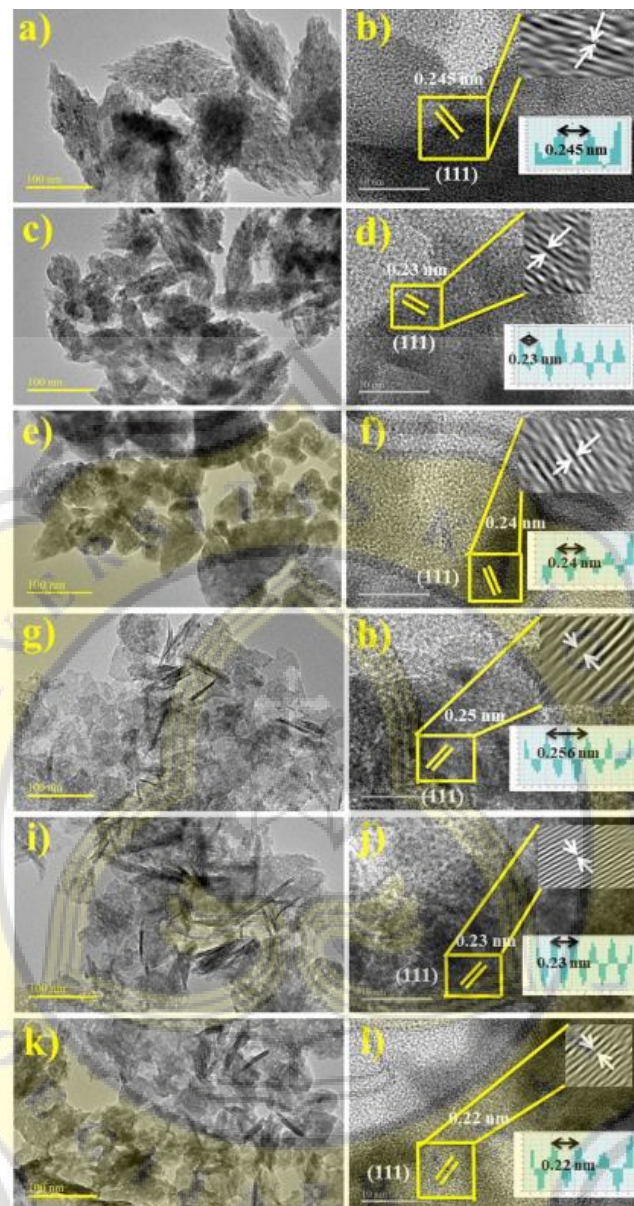
yang digunakan dalam proses sintesis. Nanopartikel yang diperoleh berada pada kisaran 20-50nm dan aglomerasi terlihat di beberapa tempat (Kurian *et al.*, 2016). Sebelum diuji menggunakan TEM, nanopartikel logam dicor pada kisi tembaga berlapis karbon dan dibiarkan kering di udara terbuka (Alsammarraie *et al.*, 2018).



Gambar 11. Hasil Analisis TEM

4.1.7.4. *High Resolution Transmission Electron Microscopy (HR-TEM)*

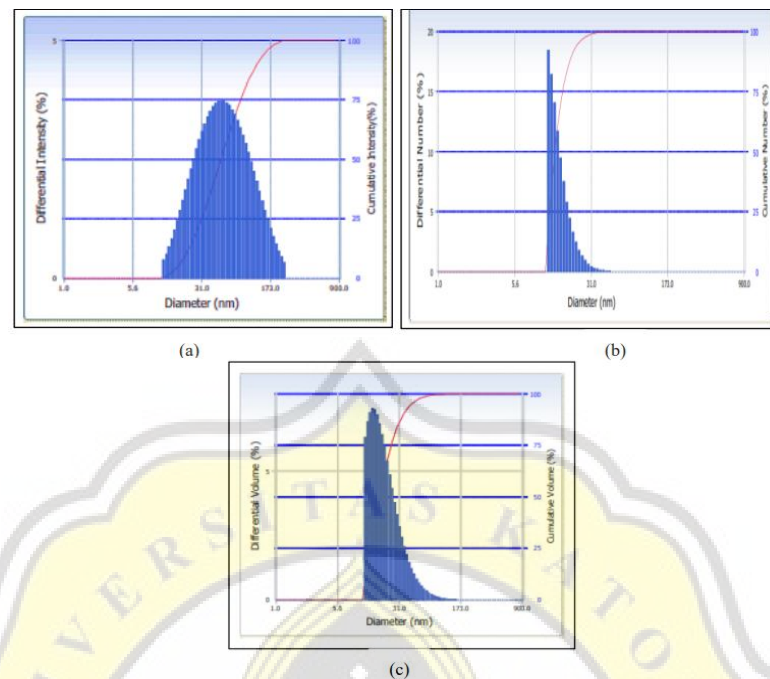
Gambar 12 menunjukkan contoh hasil analisis dari HR-TEM. Dari gambar tersebut dapat diketahui bahwa nanopartikel berukuran 50 nm dan terdapat aglomerasi dalam sampel (Ali *et al.*, 2021). Bila dibandingkan dengan hasil analisis TEM yang dilakukan oleh Kurian *et al.* (2016), gambar hasil analisis HR-TEM tampak lebih detail dan jelas. Sebelum diuji dengan HR-TEM, larutan ditempatkan pada kisi tembaga berlapis karbon dan dikeringkan terlebih dahulu agar dapat digunakan untuk analisis (Vijaya *et al.*, 2017).



Gambar 12. Hasil Analisis HR-TEM

4.1.7.5. Particle Size Analyzer (PSA)

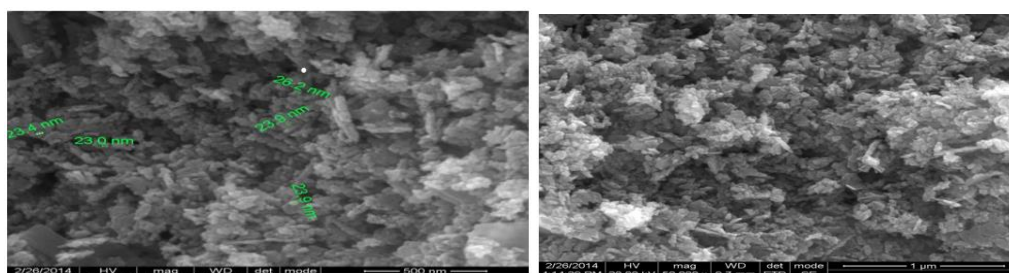
Histogram hasil analisis menggunakan PSA dapat dilihat pada gambar 13. Dari gambar tersebut dapat dilihat dispersi ukuran nanopartikel dari larutan hasil pemisahan dengan padatnya melalui proses sentrifugasi. Dari histogram tersebut didapatkan rata-rata diameter partikel sebesar 45,7 nm (Taba *et al.*, 2019).



Gambar 13. Histogram Ukuran Analisis PSA dengan (a) diferensial intensitas, (b) nomor, dan (c) volume

4.1.7.6. Scanning Electron Microscopy (SEM)

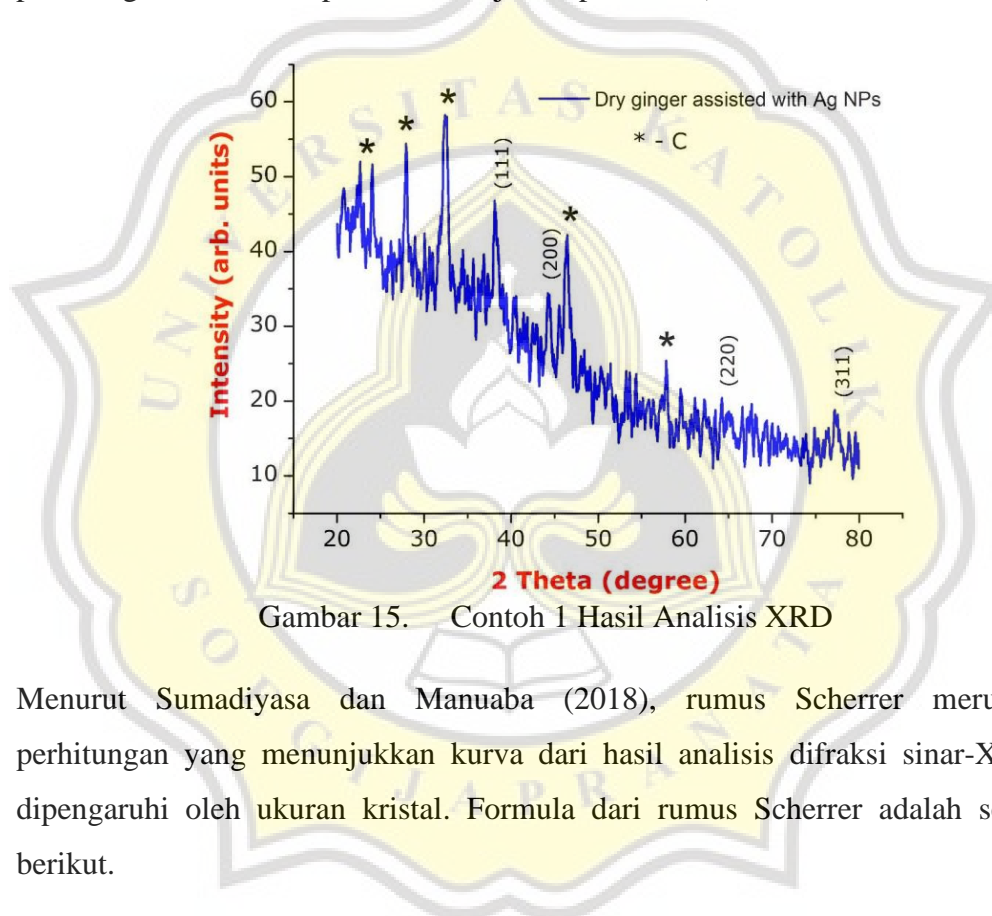
Gambar 14 menunjukkan contoh hasil analisis dari SEM. Dari gambar tersebut, dapat dilihat bahwa partikel sebagian besar berbentuk bulat dan terdapat agregat yang membentuk partikel yang lebih besar. Selain itu, gambar hasil analisis SEM tersebut menunjukkan ukuran nanopartikel berkisar antara 23-25 nm (Janaki *et al.*, 2015). Untuk preparasi sampel uji SEM, lapisan emas tipis diendapkan *sputter* ke partikel tembaga hasil sintesis menggunakan pelapis *sputter* ion dengan instrumen target emas (Vijayakumar *et al.*, 2021).



Gambar 14. Hasil Analisis SEM

4.1.7.7. X-ray Diffraction (XRD)

Gambar 15 menunjukkan contoh analisis yang dihasilkan XRD dalam penelitian yang dilakukan oleh Vijaya *et al.* (2017). Dari hasil analisis tersebut dapat diketahui puncak pada $38,1^\circ$, $44,4^\circ$, $64,6^\circ$, dan $77,5^\circ$ sesuai dengan (111), (200), (220), dan (311) dan menunjukkan partikel berbentuk *face-centered cubic* (fcc). Ukuran partikel yang dihasilkan dari rumus Scherrer adalah 10 nm (data perhitungan tidak ditampilkan dalam jurnal penelitian).



Gambar 15. Contoh 1 Hasil Analisis XRD

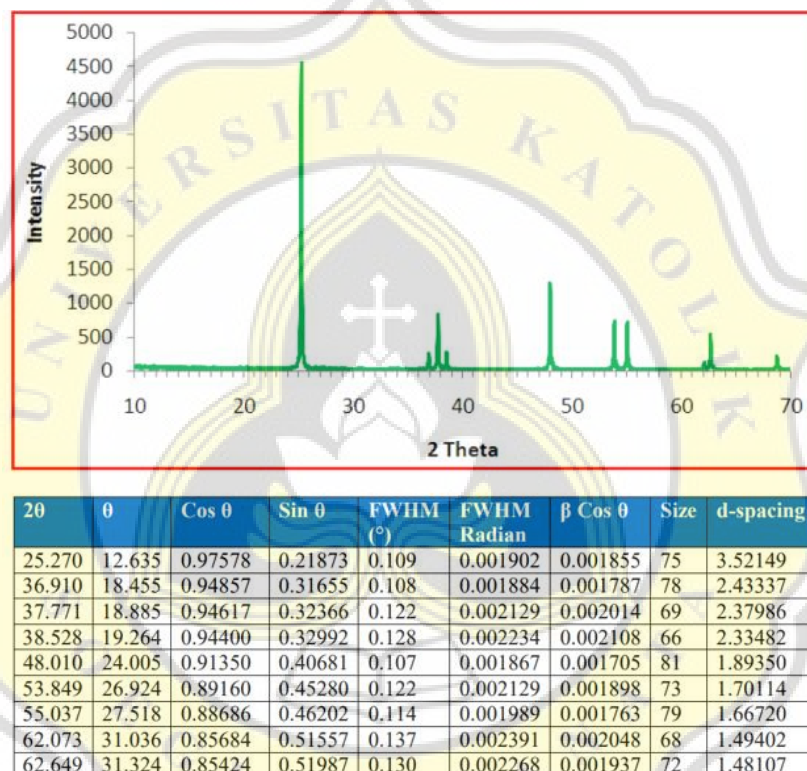
Menurut Sumadiyasa dan Manuaba (2018), rumus Scherrer merupakan perhitungan yang menunjukkan kurva dari hasil analisis difraksi sinar-X yang dipengaruhi oleh ukuran kristal. Formula dari rumus Scherrer adalah sebagai berikut.

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos(\theta)}$$

Dari formula tersebut, D melambangkan hasil perhitungan ukuran nanopartikel yang dihasilkan (nm), K adalah konstanta perhitungan berdasarkan bentuk kristal, λ adalah panjang gelombang dari sinar X yang digunakan, β melambangkan *Integral Breadth* atau FWHM (*Full Width at Half Maximum*) yang berasal dari puncak hasil analisis XRD, dan θ merupakan sudut dari difraksi. Nilai K yang

digunakan biasanya sebesar 0,94 jika β merupakan FWHM dan nilai *Integral Breadth* sebesar 0,89.

Contoh lain ditunjukkan oleh Theivasanthi dan Alagar (2013) yang menggunakan XRD untuk menganalisis nanopartikel titanium dioksida (TiO_2) dalam bentuk bubuk yang sebelumnya telah disiapkan. Berikut merupakan gambar hasil analisis tersebut dan rangkuman hasil analisis dalam bentuk tabel.

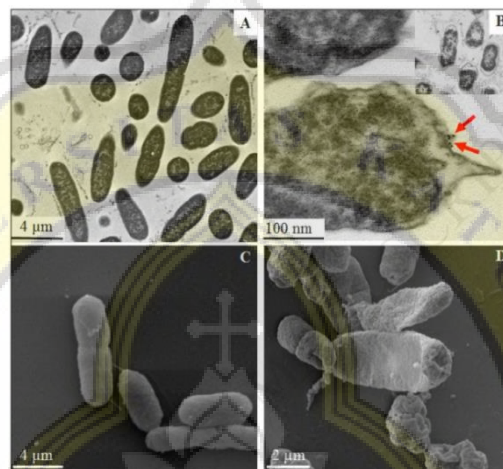


Gambar 16. Contoh 2 Hasil Analisis XRD

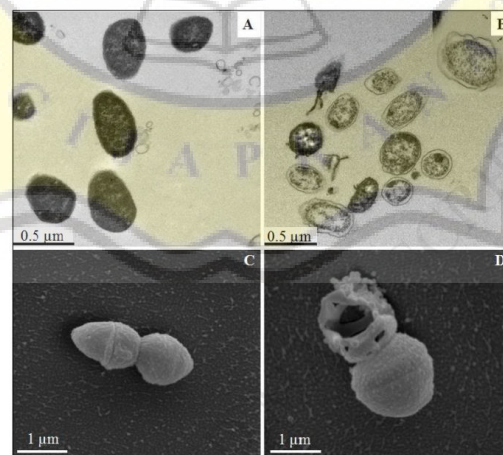
4.1.8. Sifat Fungsional Nanopartikel Hasil Sintesis

Nanopartikel hasil sintesis dapat memberikan atau meningkatkan beragam sifat partikel, di antaranya yaitu sifat antibakteri. Alsammarraie *et al.* (2018) menyatakan bahwa nanopartikel menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *L. Monocytogenes* dan *E. coli*. Hasil analisis menggunakan TEM terhadap strain bakteri menunjukkan bahwa sampel kontrol memiliki dinding sel yang halus dan teratur dengan isi sitoplasma yang homogen, namun membran sel yang diberi perlakuan dengan nanopartikel menjadi rusak dan memiliki bentuk serta tonjolan

yang tidak beraturan. Hasil analisis menggunakan SEM juga membuktikan bahwa sampel kontrol menunjukkan kondisi sel yang masih dalam kondisi baik, sedangkan sel yang diberi perlakuan dengan nanopartikel memiliki kondisi yang rusak dengan lubang besar dan terdapat fragmen di membran sel yang menyebabkan sel lisis dan rusak. Berikut merupakan gambar perbandingan sampel bakteri antara kontrol dan dengan pemberian nanopartikel.



Gambar 17. Hasil Analisis TEM (A & B) dan SEM (C & D) dari Sel *E. coli* O157:H7 (A & C kelompok kontrol, B & D setelah perlakuan dengan nanopartikel)



Gambar 18. Hasil analisis TEM (A & B) dan SEM (C & D) dari sel *L. monocytogenes* (A & C kelompok kontrol, B & D setelah perlakuan dengan nanopartikel)

Selain aktivitas antibakteri, nanopartikel hasil sintesis juga dapat memiliki aktivitas antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas. Namun, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Taba *et al.* (2019) menunjukkan bahwa nanopartikel perak dengan ekstrak daun salam yang disintesis memiliki persentase aktivitas antioksidan yang lebih rendah bila dibandingkan dengan persentase aktivitas antioksidan ekstrak daun salam saja dan kontrol yang menggunakan asam askorbat. Nilai IC_{50} dari nanopartikel yang sebesar 109,64 ppm lebih rendah bila dibandingkan dengan kontrol yang sebesar 582,66 ppm. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Menon *et al.* (2019) yang menemukan bahwa nilai IC_{50} dari sampel nanopartikel selenium dengan ekstrak jahe yang sebesar 125 $\mu\text{g/mL}$ memiliki nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan IC_{50} dari kontrol asam askorbat yang sebesar 250 $\mu\text{g/mL}$. Menurut Taba *et al.* (2019), hal tersebut bisa terjadi karena masih banyaknya senyawa antioksidan yang terdapat dalam ekstrak *herbs and spices* yang digunakan bila dibandingkan dengan nanopartikel hasil sintesis.

4.2. Keamanan Nanopartikel Berbasis *Herbs and Spices* dalam Industri Pangan

4.2.1. Pengaruh Konsentrasi Nanopartikel terhadap Tingkat Toksisitas

Nanopartikel hasil sintesis yang menggunakan senyawa logam dapat memiliki potensi toksisitas dalam tingkat tertentu. Penelitian yang dilakukan oleh AlSalhi *et al.*, (2016) terhadap sel stroma kulit neonatus manusia (hSSCs) dan sel kanker usus besar (HT115) dengan nanopartikel perak menggunakan uji *Alamar Blue* menunjukkan bahwa toksisitas sel yang signifikan diamati pada konsentrasi nanopartikel di atas 10 $\mu\text{g/mL}$ (20, 30, 40, dan 50 $\mu\text{g/mL}$). Penelitian yang dilakukan oleh Babu *et al.* (2017) menunjukkan bahwa nanopartikel yang diuji menunjukkan toksisitas pada konsentrasi tertentu. Dalam uji viabilitas yang dilakukan pada sel epitel paru-paru, uji MTT, dan uji *Reactive Oxygen Species* (ROS), nanopartikel emas dengan ekstrak jahe aman hingga konsentrasi 25 $\mu\text{g/mL}$. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Sathishkumar *et al.* (2015) juga

menunjukkan bahwa terjadi penurunan viabilitas sel sebanyak 15% dari konsentrasi nanopartikel terendah yang sebesar 10 nM sampai konsentrasi tertinggi yang sebesar 200 nM.

4.2.2. Pengaruh Ukuran Nanopartikel terhadap Tingkat Toksisitas

Menurut penelitian yang dilakukan Sathishkumar *et al.* (2015), uji viabilitas sel epitel paru-paru terhadap 3 macam nanopartikel (nanopartikel emas yang disintesis dengan pekap, natrium borohidrat, dan natrium sitrat) menghasilkan tingkat viabilitas sel sebesar 80,2% untuk nanopartikel emas dengan pekap, 72,3% pada nanopartikel emas yang disintesis dengan natrium sitrat, dan 65,7% pada nanopartikel emas yang disintesis dengan natrium borohidrat. Perbedaan tingkat viabilitas tersebut dapat dikaitkan dengan ukuran nanopartikel yang diuji. Nanopartikel emas dengan ekstrak pekap memiliki ukuran dalam kisaran 20-50 nm, nanopartikel emas yang disintesis dengan natrium sitrat dengan kisaran 10-20 nm, dan nanopartikel emas yang disintesis dengan natrium borohidrat dalam kisaran 5-6 nm.

4.2.3. Perbandingan Sifat Toksisitas Nanopartikel

Dari Tabel 8, dapat dilihat bahwa penelitian yang dilakukan oleh AlSalhi *et al.*, (2016) dan Babu *et al.* (2017) menunjukkan toksisitas nanopartikel logam akan meningkat seiring meningkatnya konsentrasi. Namun, terdapat penelitian yang menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi nanopartikel tidak berpengaruh terhadap sampel sel yang digunakan. penelitian yang dilakukan Leonard *et al.* (2011) menunjukkan bahwa kurang adanya pengaruh konsentrasi nanopartikel dalam tingkat toksisitas yang diuji. Setelah 48 jam setelah perlakuan, sel yang diuji terhadap nanopartikel emas dengan ekstrak ginseng merah (konsentrasi 1, 10, 25, 50, dan 100 μM) menggunakan metode uji kolorimetri WST-8 menunjukkan viabilitas yang sangat baik ($P < 0,05$) terhadap seluruh konsentrasi nanopartikel. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak ginseng merah yang digunakan memberikan lapisan tidak beracun pada nanopartikel hasil sintesis. Penelitian yang dilakukan oleh Jahan *et al.*, 2020 juga menunjukkan bahwa tidak

adanya toksisitas nanopartikel perak dan tembaga dengan ekstrak jahe pada sel fibroblas tikus yang diuji karena viabilitas sel tidak terlalu terpengaruh pada konsentrasi nanopartikel (0, 0,1, 0,25, 0,5, 1, 2,5, dan 5 $\mu\text{g/mL}$) yang diperiksa. Dari penelitian-penelitian tersebut, dapat diketahui bahwa nanopartikel dapat bersifat aman, namun nanopartikel hasil sintesis juga dapat memiliki potensi toksisitas pada konsentrasi tertentu.

Ukuran nanopartikel dapat memengaruhi tingkat toksisitas dari nanopartikel tersebut. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Sathishkumar *et al.* (2015) yang menunjukkan bahwa semakin kecil ukuran partikel, tingkat toksisitas akan semakin meningkat. Menurut Bhoopathy *et al.* (2021), ukuran partikel yang semakin kecil akan meningkatkan penetrasi partikel, yang menyebabkan nilai toksisitas semakin tinggi.

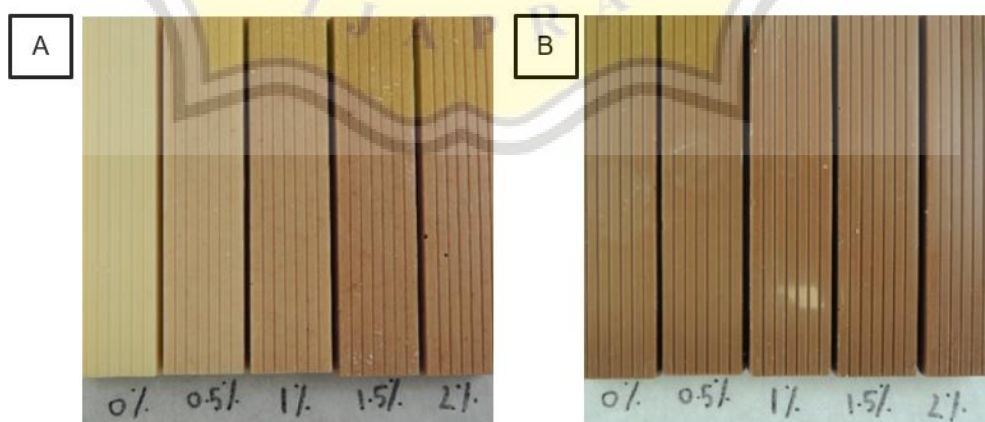
4.3. Penggunaan Nanopartikel Berbasis *Herbs and Spices* dalam Industri Pangan

4.3.1. Antioksidan untuk Produk Cokelat Batang

Dalam penelitian yang dilakukan Muhammad *et al.* (2018), nanopartikel ditambahkan ke dalam produk cokelat batang dengan maksud untuk memberikan sifat antioksidan dari nanopartikel yang disintesis ke dalam cokelat tersebut. Nanopartikel dibuat dengan menggunakan bahan utama ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii Blume*), *xanthan gum*, dan *shellac*. Setelah melewati serangkaian karakterisasi, nanopartikel akan digunakan dalam proses formulasi cokelat batang. Terdapat 2 jenis cokelat batang yang digunakan dalam penelitian, yaitu cokelat susu dan cokelat putih. Nanopartikel yang dibuat sebelumnya akan dicampurkan ke dalam cokelat dan hasil cokelat yang telah jadi akan dianalisis lebih lanjut.

4.3.1.1. Analisis dan Efek Penambahan Nanopartikel dalam Produk Cokelat Batang

Berdasarkan Tabel 9, nanopartikel yang ditambahkan dapat meningkatkan kandungan total fenolik dan aktivitas antioksidan produk cokelat batang. Hasil analisis dari produk menunjukkan bahwa penambahan *Lyophilised Colloidal Nanoparticles containing Cinnamon Extract* (LCNP-CE) dapat meningkatkan kandungan total fenolik dan aktivitas antioksidan dari cokelat susu maupun cokelat putih. Persentase dari LCNP-CE dalam cokelat berbanding lurus dengan kapasitas antioksidan cokelat ketika dievaluasi dengan uji *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP), analisis menggunakan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), dan metode fosfomolibdenum. Uji tingkat pelepasan senyawa fenolik dari produk cokelat putih dengan ekstrak kayu manis menunjukkan perbedaan pada persentase pelepasan senyawa. Pada menit ke-15, pelepasan senyawa fenolik yang terjadi adalah sebesar 7% untuk produk cokelat putih dan 17% untuk ekstrak kayu manis. Sedangkan pada menit ke-240, pelepasan senyawa fenolik pada produk cokelat putih sebesar 24%, sedangkan untuk ekstrak kayu manis sebesar 54%. Hasil analisis pelepasan senyawa fenolik dari ekstrak kayu manis yang terenkapsulasi jauh lebih rendah karena proses enkapsulasi dapat mengurangi pelepasan senyawa bioaktif. Berikut merupakan gambar hasil produk dari cokelat putih dan cokelat susu dengan persentase LCNP-CE tertentu.



Gambar 19. Hasil Produk Cokelat Putih (A) dan Cokelat Susu (B)

4.3.2. Deteksi Melamin

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Jigyasa dan Rajput (2018), nanopartikel perak yang disintesis memiliki potensi dalam deteksi kandungan melamin pada susu. Nanopartikel disintesis dengan ekstrak kurkumin dan selanjutnya digunakan dalam pengujian dengan melamin.

4.3.2.1. Prinsip Kerja Deteksi Kandungan Melamin

Berdasarkan Tabel 9, kandungan melamin dalam produk dapat terdeteksi dari perubahan warna larutan sampel dan berkurangnya unsur perak dalam produk. Jigyasa dan Rajput (2018) menyebutkan bahwa secara visual, warna nanopartikel yang semula berwarna kuning cerah akan berubah menjadi berwarna merah pucat pada penambahan senyawa melamin dengan konsentrasi yang cenderung rendah dan jika konsentrasi melamin semakin tinggi, warna larutan dapat berubah menjadi tidak berwarna (*colorless*).

Senyawa melamin dapat berinteraksi dengan agen pereduksi dan ion Ag^+ yang terdapat selama proses sintesis. Jenis interaksi yang pertama adalah interaksi ikatan hidrogen antara melamin dan reduktor. Zat pereduksi yang memiliki gugus $-\text{OH}$ akan terikat dengan senyawa melamin. Senyawa melamin yang berikatan dengan zat pereduksi akan menurunkan ketersediaan agen pereduksi untuk mengubah ion Ag^+ menjadi Ag^0 . Senyawa melamin yang berikatan dengan zat pereduksi juga dapat ditunjukkan dengan analisis menggunakan *Fourier Transform Infrared spectroscopy* (FTIR). Perubahan yang ditunjukkan pada ikatan $-\text{NH}_2$ dan cincin triazin ($-\text{C}=\text{N}$) dari melamin yang diamati menunjukkan interaksi antara melamin dan zat pereduksi. Jenis interaksi kedua adalah pembentukan ikatan koordinasi melamin dengan ion Ag^+ . Ion Ag^+ dapat berinteraksi dengan atom nitrogen amina dan kelompok triazin melamin melalui interaksi donor-akseptor. Melamin dapat berfungsi sebagai ligan pengkelat atau pengikat logam yang mengandung nitrogen sebagai atom donor. Dengan demikian, dapat diketahui bahwa deteksi kandungan melamin dengan nanopartikel dengan senyawa logam dapat dilakukan karena proses reduksi

selama pembentukan nanopartikel dapat terganggu akibat dari senyawa melamin yang berikatan dengan ion logam.

4.3.3. Film Pelapis Daging

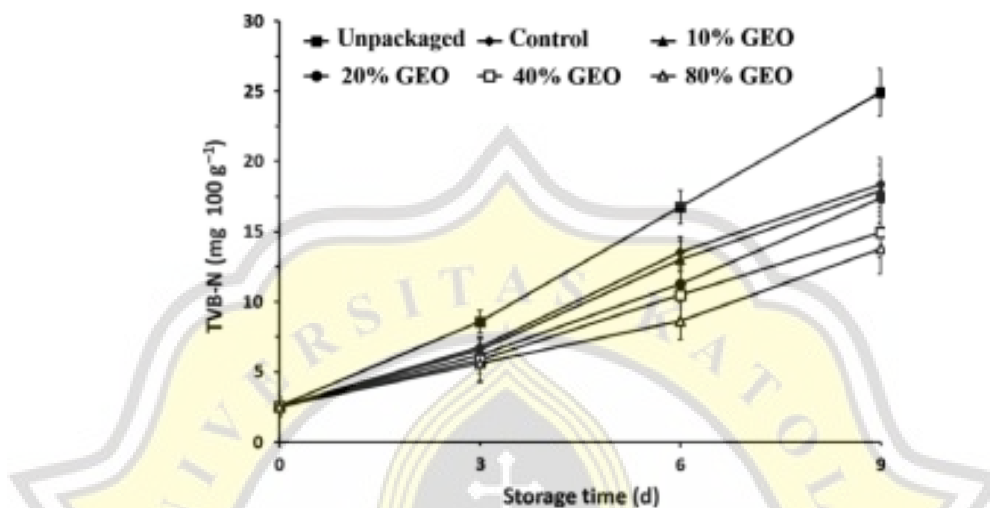
Menurut Zhang *et al.* (2017), nanopartikel seng oksida dengan ekstrak dapat diolah menjadi *film* untuk daging. Nanopartikel ZnO yang sebelumnya telah jadi dicampur dengan serbuk gelatin, gliserol, dan minyak esensial jahe, dihomogenisasi dengan *homogenizer*, diproses dengan pompa vakum, dicetak pada pelat poliakrilat, dikeringkan dengan oven untuk membentuk film, dan terakhir dicuci dengan larutan magnesium nitrat jenuh.

4.3.3.1. Analisis dan Efek Penerapan Film

Berdasarkan Tabel 9, *film* yang diuji dapat menurunkan permeabilitas uap air, sifat antibakteri, menurunkan nilai peroksida, dan mengurangi kandungan *Total Volatile Bases Nitrogen* (TVB-N). Menurut analisis *Water Vapor Permeability* (WVP), tingkat permeabilitas *film* dapat dipengaruhi konsentrasi ekstrak jahe yang digunakan dalam bentuk minyak esensial. Hal tersebut ditunjukkan pada perlakuan *relative humidity* (RH) 53-75% dan 53-100% yang menunjukkan penurunan tingkat permeabilitas uap air secara signifikan ($P < 0,05$) seiring meningkatnya konsentrasi minyak esensial jahe. Penurunan permeabilitas uap air disebabkan karena minyak esensial jahe dapat berinteraksi dengan molekul protein yang cenderung menurunkan tingkat hidrofilitas. Dengan demikian, dapat diketahui bahwa *film* yang dibentuk memiliki sifat penghalang uap air yang lebih baik, terutama pada RH tinggi, yang merupakan kondisi umum daging atau produk yang memiliki kelembaban tinggi lainnya.

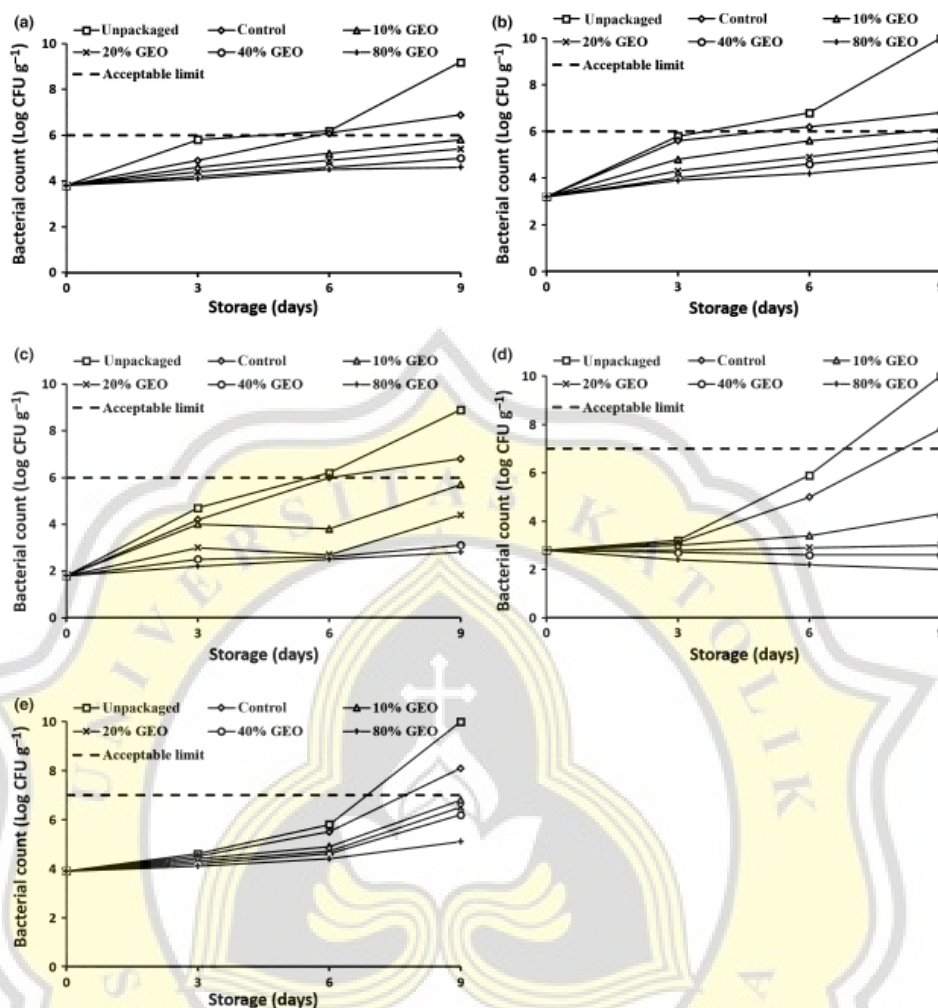
Analisis kandungan *total volatile bases nitrogen* (TVB-N) yang dilakukan menunjukkan bahwa *film* yang diberi minyak esensial jahe dapat menjaga kesegaran dari daging. Setelah penyimpanan selama 9 hari, konten TVB-N dari daging yang tidak diberi *film* dan daging yang diberi *film* tanpa minyak esensial jahe memiliki nilai yang lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan *film* yang diberi minyak esensial jahe. Kandungan TVB-N yang lebih rendah

menunjukkan bahwa penambahan minyak esensial jahe dapat mengurangi pembentukan nitrogen dari dekomposisi protein. Secara lebih lengkap, hal tersebut dapat dilihat pada Gambar 20.



Gambar 20. Grafik Uji TVB-N

Film yang dibuat dapat memberikan sifat antimikroba. Setelah disimpan selama 9 hari, sampel daging yang dikemas dengan *film* yang diberi minyak esensial jahe sebesar 80% memiliki jumlah bakteri sebesar 4,6 log CFU⁻¹ untuk bakteri psikrotrofik, 4,7 log CFU⁻¹ untuk bakteri mesofil, dan 2,8 log CFU g⁻¹ untuk Bakteri Asam Laktat (BAL), yang secara signifikan lebih rendah ($P < 0,05$) dibandingkan dengan daging yang menggunakan *film* tanpa minyak esensial jahe dan daging yang tidak diberi *film*. Uji sifat antibakteri terhadap *E. coli* dan *L. monocytogenes* juga menunjukkan bahwa jumlah bakteri sudah berada di atas 7 log CFU⁻¹ selama perlakuan penyimpanan antara hari ke-6 dan ke-9. Secara lengkap, pengaruh pemberian *film* dengan minyak esensial jahe dapat dilihat pada Gambar 21.



Gambar 21. Grafik Uji Antibakteri terhadap (a) psikrotrofik, (b) mesofil, (c) BAL, (d) *E. coli*, dan (e) *L. monocytogenes*

Penggunaan *film* yang dibuat juga dapat memberikan efek antioksidan. Hal tersebut dibuktikan dalam uji *Peroxide Values* (POV) terhadap sampel daging babi yang digunakan. Selama penyimpanan, daging yang tidak diberi lapisan *film* dan daging yang diberi *film* tanpa menggunakan minyak esensial jahe menunjukkan POV yang lebih tinggi secara signifikan ($P < 0,05$) bila dibandingkan dengan daging yang diberi *film* dengan minyak esensial jahe. Hal tersebut dapat disebabkan karena penggunaan minyak esensial jahe dan nanopartikel yang digunakan dalam pembuatan *film* dapat menurunkan permeabilitas *film* terhadap uap air dan gas dari lingkungan tempat penyimpanan daging.

4.3.4. Edible Coating

Nanopartikel yang dibuat dari senyawa logam selenium dan kayu manis dapat diolah menjadi *edible coating*. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Alghuthaymi *et al.* (2021), *coating* yang dibuat memanfaatkan kitosan yang diambil dari kulit udang putih (*Fenneropenaeus indicus*). Kitosan yang telah diekstrak akan diproses menjadi nanokitosan, dan digunakan dalam fitosintesis nanopartikel selenium dengan menggunakan ekstrak kayu manis.

4.3.4.1. Analisis dan Efek Penerapan Edible Coating

Menurut Tabel 9, *edible coating* yang dibuat dalam penelitian memiliki aktivitas antibakteri. Hal tersebut ditunjukkan pada hasil analisis *Zones of Growth Inhibition* (ZOI) dan *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) dari *coating* yang diformulasikan dengan ekstrak kayu manis, logam selenium, dan kitosan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *food-borne bacteria* yang paling tinggi dari perlakuan lainnya. Dari empat jenis bakteri yang diuji, formulasi *coating* paling efektif terhadap *L. monocytogenes*, diikuti *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, dan yang terakhir adalah *Salmonella typhimurium*. Hasil pengujian ZOI dan MIC dapat dilihat pada tabel berikut. Dari kedua tabel tersebut, dapat diketahui bahwa sifat antibakteri akan semakin baik jika nilai ZOI semakin besar dan nilai MIC semakin kecil.

Tabel 10. Uji *Zones of Growth Inhibition* (ZOI)

Jenis Sampel	ZOI (mm)			
	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
Ekstrak kayu manis	8,7 ± 0,5	9,9 ± 0,7	12,1 ± 0,7	12,8 ± 0,8
Formulasi <i>coating</i> dengan ekstrak kayu manis dan senyawa logam selenium	11,7 ± 1,0	12,7 ± 1,1	15,3 ± 1,2	16,2 ± 1,2
Formulasi <i>coating</i> dengan ekstrak kayu manis, senyawa	17,2 ± 1,1	17,8 ± 1,2	18,4 ± 1,4	20,9 ± 1,6

logam selenium, dan kitosan

Tabel 11. Uji *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC)

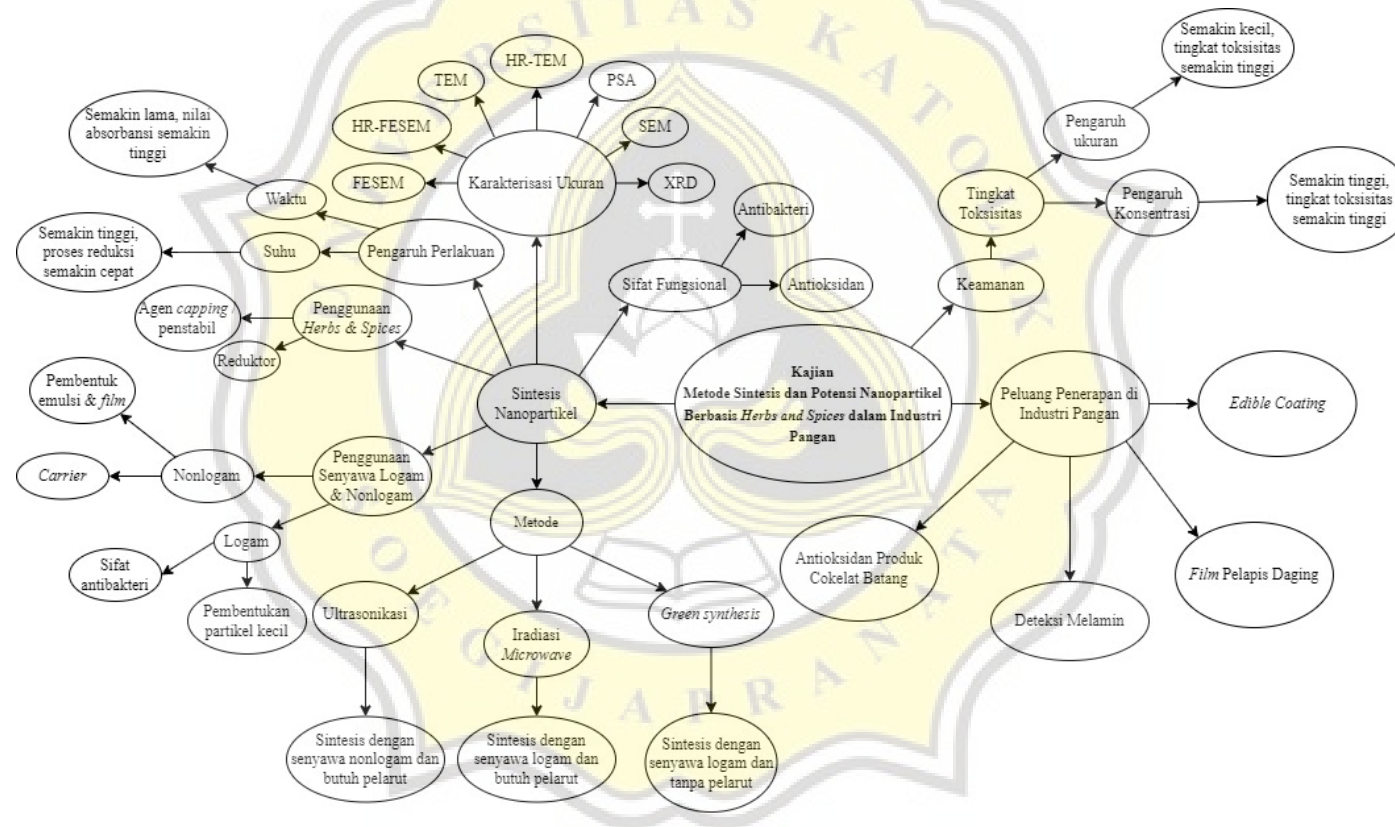
Jenis Sampel	MIC ($\mu\text{g/mL}$)			
	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
Ekstrak kayu manis	50,0	47,5	40,0	27,5
Formulasi <i>coating</i> dengan ekstrak kayu manis dan senyawa logam selenium	37,5	35,0	32,5	30,0
Formulasi <i>coating</i> dengan ekstrak kayu manis, senyawa logam selenium, dan kitosan	27,5	27,5	22,5	20,0

4.3.5. Peluang Pemanfaatan Nanopartikel dalam Industri Pangan

Berdasarkan Tabel 9, selain untuk deteksi melamin, nanopartikel dapat berfungsi untuk mengawetkan produk dengan sifat antibakteri dan antioksidan. Menurut Muhammad *et al.* (2018), penambahan nanopartikel yang dilakukan dapat meningkatkan kandungan total fenolik dan aktivitas antioksidan dari coklat susu maupun coklat putih, sehingga mencegah proses oksidasi yang dapat terjadi. *Coating* yang diformulasikan dalam penelitian yang dilakukan oleh Alghuthaymi *et al.* (2021) dapat memiliki sifat antibakteri karena *coating* tersebut memiliki sifat yang dapat menyebabkan deformasi dinding sel dari bakteri yang diuji. Hal tersebut ditunjukkan pada analisis SEM yang dilakukan terhadap *S. typhimurium* dan *E. Coli*. Pada awal perlakuan dengan nanopartikel selenium dengan ekstrak kayu manis, sampel bakteri masih memiliki bentuk yang beraturan dengan permukaan yang halus. Namun, setelah 5 jam perlakuan, dinding sel bakteri menjadi bengkak. Dan setelah perlakuan selama 10 jam, kedua jenis bakteri yang diuji mengalami lisis sel. Oleh karena itu, *coating* berpotensi untuk meningkatkan ketahanan suatu produk pangan terhadap *food-borne bacteria*.

4.4. Graphical Summary

Berikut merupakan *graphical summary* dari pembahasan yang telah dilakukan.



Gambar 22. Grapichal summary