



UNIVERSITAS INDONESIA

**PEMANFAATAN TUMBUHAN TROPIS UNTUK
BIOSINTESIS NANOPARTIKEL PERAK DAN APLIKASINYA
SEBAGAI INDIKATOR KOLORIMETRI KEBERADAAN
LOGAM BERAT**

TESIS

WINDRI HANDAYANI

0806476980

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM PASCASARJANA
PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPOK
JULI 2011**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PEMANFAATAN TUMBUHAN TROPIS UNTUK
BIOSINTESIS NANOPARTIKEL PERAK DAN APLIKASINYA
SEBAGAI INDIKATOR KOLORIMETRI KEBERADAAN
LOGAM BERAT**

TESIS

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains**

WINDRI HANDAYANI

0806476980

**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM PASCASARJANA
PROGRAM STUDI BIOLOGI**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Windri Handayani

NPM : 0806476980

Tanda Tangan :



Tanggal: 13 Juli 2011

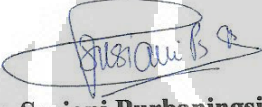
JUDUL : PEMANFAATAN TUMBUHAN TROPIS UNTUK
BIOSINTESIS NANOPARTIKEL PERAK DAN
APLIKASINYA SEBAGAI INDIKATOR
KOLORIMETRI KEBERADAAN LOGAM BERAT

Nama : WINDRI HANDAYANI

NPM : 0806476980


MENYETUJUI,


1. Komisi Pembimbing


Dr. Susiani Purbaningsih, DEA
Pembimbing I


Dr. Ing. Cuk Imawan
Pembimbing II

2. Penguji


Dra. Lestari Rahayu F.K., M.Sc.
Penguji I


Dr. Andi Salamah
Penguji II

3. Ketua Program Studi Biologi
Program Pascasarjana FMIPA UI

4. Ketua Program Pascasarjana
FMIPA UI


Dr. Luthfirda Sjahfirdi, M. Biomed


Dr. Adi Basukriadi, M.Sc.

Tanggal Lulus: 13 Juli 2011

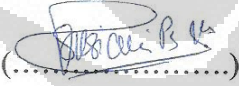
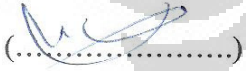


HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :

Nama : Windri Handayani
NPM : 0806476980
Program Studi : Biologi
Judul Tesis : Pemanfaatan Tumbuhan Tropis Untuk
Biosintesis Nanopartikel Perak dan
Aplikasinya Sebagai Indikator
Kolorimetri Keberadaan Logam Berat

Telah berhasil saya pertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr. Susiani Purbaningsih, DEA. 
Pembimbing : Dr. Ing. Cuk Imawan 
Penguji : Dra. Lestari Rahayu F.K., M.Sc. 
Penguji : Dr. Andi Salamah 

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 13 Juli 2011

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Windri Handayani
NPM : 0806476980
Program Studi : Biologi
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Pemanfaatan Tumbuhan Tropis Untuk Biosintesis Nanopartikel Perak dan Aplikasinya Sebagai Indikator Kolorimetri Keberadaan Logam Berat

Berserta perangkat yang ada jika diperlukan. Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di: Jakarta
Pada tanggal: 13 Juli 2011
Yang Menyatakan


(Windri Handayani)

KATA PENGANTAR

Segala puji dipanjatkan kehadirat Allah SWT, hanya atas segala nikmat dan rahmat-Nya penulis akhirnya dapat melewati berbagai ujian, baik kelapangan maupun kesempitan selama menyelesaikan tesis ini. Terimakasih yang tidak terhingga penulis ucapkan kepada berbagai pihak yang telah membantu terselesaikannya tesis ini.

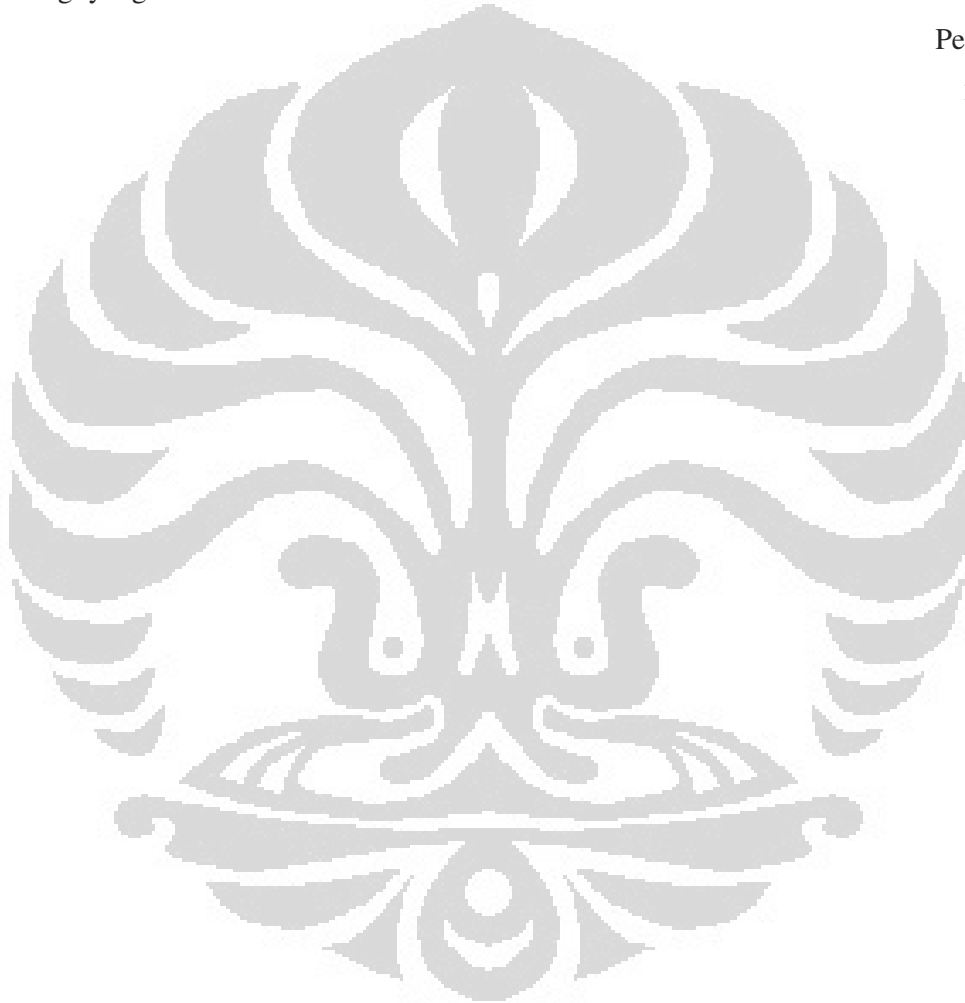
1. Dr. Susiani Purbaningsih, DEA dan Dr. Ing. Cuk Imawan yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, ilmu serta dukungan moril, dan materil dalam penyelesaian tesis ini.
2. Dra. Lestari Rahayu, F.K., M.Sc. dan Dr. Andi Salamah selaku penguji atas berbagai kritik dan sarannya.
3. Dr. Luthfiralda S., M. Biomed dan Dr. Nisyawati selaku Ketua dan Sekretaris Program Studi Pascasarjana Biologi FMIPA UI.
4. Laboratorium Genetika, Dept. Biologi FMIPA UI, Dr. Abinawanto, beserta Mbak Asri atas kesediaannya meminjamkan alat untuk riset awal.
5. Mega Atria, M.Si., Dr. Upi Chairun Nisa, Dian Hendrayanti, M.Sc, Ratna Yuniati, M.Si atas segala perhatian, hiburan, dan dukungannya.
6. Rekan-rekan Program Pascasarjana Universitas Indonesia mid 2008 Acep dan Purity, serta rekan-rekan Pascasarjana Biologi lainnya yang tidak akan cukup untuk disebutkan satu persatu plus Mbak Evi atas segala kebersamaan dan bantuannya selama menempuh studi bersama.
7. Rekan-rekan Tim Penelitian Bakir dan Wahyu untuk segala bantuan dan diskusinya. Kemudian rekan-rekan Lab. Fisiologi Tumbuhan, Dept. Biologi FMIPA UI, Rizka, Galuh dan Haikal, serta para asisten Praktikum Fisiologi Tumbuhan 2009/2010 dan 2010/2011.
8. Rekan-rekan “BIRU” dan saudara saudariku, atas segala sharing dan motivasinya, Fitri atas segala bantuan dan support di sela-sela kesibukannya, Yuyun, Vilya, Tri, Melly, Ganda, Dida, dan Mita.

9. Teristimewa untuk Mama tersayang atas segala pengertian dan dukungannya yang tidak pernah akan bisa tergantikan dengan materi apapun. Teruntuk almarhum Papa, semoga karya ini bisa menjadi salah satu pijakan untuk mencapai 'bulan'.

Tesis ini tentu saja tidak lepas dari segala kekurangannya. Semoga tulisan ini bisa menjadi salah satu sarana untuk menambah informasi dan pengetahuan bagi yang membaca.

Penulis

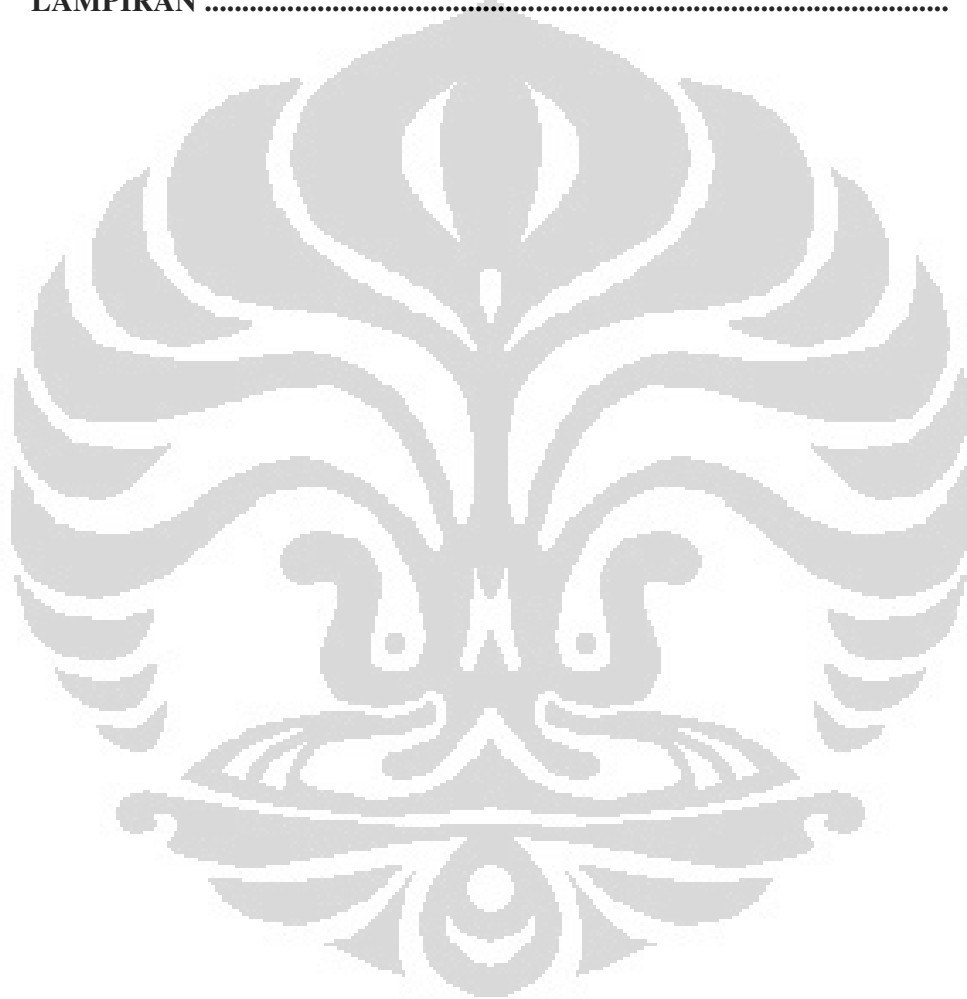
2011



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
ABSTRAK (ABSTRACT)	xi
RINGKASAN (SUMMARY).....	xiii
PENGANTAR PARIPURNA	1
A. Perkembangan Nanosains dan Nanoteknologi	1
B. Biosintesis Nanopartikel Perak	3
C. Pemanfaatan Tumbuhan untuk Biosintesis Nanopartikel Perak	5
D. Karakterisasi Nanopartikel Perak dan Kelompok Senyawa Metabolit Sekunder pada Tumbuhan.....	8
E. Aplikasi Nanopartikel sebagai Indikator Kolorimetri Logam Berat.....	10
MAKALAH I : PEMANFAATAN TUMBUHAN TROPIS UNTUK BIOSINTESIS NANOPARTIKEL PERAK	14
Abstrak	14
Pendahuluan.....	17
Bahan dan Cara Kerja	19
Hasil.....	26
Pembahasan	32
Kesimpulan	33
Daftar Pustaka	
MAKALAH II: POTENSI PEMANFAATAN NANOPARTIKEL PERAK HASIL BIOSINTESIS SEBAGAI INDIKATOR KOLORIMETRI LOGAM BERAT	37
Abstrak	37
Pendahuluan.....	37
Bahan dan Cara Kerja	40
Hasil	42
Pembahasan	49
Kesimpulan	52
Daftar Pustaka	52

DISKUSI PARIPURNA	55
A. Pengaruh Parameter Proses Biosintesis	55
B. Karakter Tumbuhan untuk Biosintesis Nanopartikel Perak.....	59
C. Aplikasi Nanopartikel Perak untuk Deteksi Kolorimetri keberadaan Logam Berat	63
RANGKUMAN KESIMPULAN DAN SARAN	67
DAFTAR ACUAN	69
LAMPIRAN	74



ABSTRAK

Nama : Windri Handayani
Program studi : Pascasarjana Biologi
Judul : Pemanfaatan Tumbuhan Tropis untuk Biosintesis Nanopartikel Perak dan Aplikasinya sebagai Indikator Kolorimetri Keberadaan Logam Berat

Biosintesis nanopartikel perak dengan memanfaatkan tumbuhan tropis untuk sintesis nanomaterial yang ramah lingkungan berpotensi untuk dikembangkan. Tumbuhan diketahui memiliki kemampuan untuk mereduksi ion perak menjadi partikel perak berukuran < 100 nm. Nanopartikel perak memiliki potensi untuk diaplikasikan sebagai indikator untuk mendeteksi keberadaan logam berat. Selama ini, deteksi dan pengukuran logam berat yang mencemari lingkungan membutuhkan waktu, serta peralatan dan biaya analisis yang tidak murah. Penelitian ini memanfaatkan 8 jenis tumbuhan, terutama yang terdapat di daerah tropis, sebagai agen biosintesis untuk memperoleh nanopartikel perak. Kedelapan tumbuhan tersebut ialah *Azadiracta indica* A. Juss (Mimba), *Centella asiatica* (L.) Urban (pegagan), *Cerbera manghas* L. (Bintaro), *Dillenia indica* L. (Dillenia), *Diospyros blancoi* A. DC. (Bisbul), *Murraya paniculata* (L.) Jack (Kemuning), *Pometia pinnata* J. R. Forst & G. Forst (Matoa), dan *Phalleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. (Mahkota dewa). Dilakukan beberapa variasi proses berupa penggunaan air ebusan dari daun segar dan juga kering, rasio volume air rebusan daun dengan AgNO_3 . Karakterisasi hasil biosintesis dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis. Pengujian senyawa metabolit sekunder secara kualitatif juga dilakukan untuk mendeteksi keberadaan kelompok senyawa alkaloid, fenol, saponin, terpenoid, dan flavanoid pada tumbuhan yang digunakan. Analisis spektrum UV-Vis dari hasil biosintesis diperoleh 7 jenis tumbuhan menunjukkan diperoleh spektrum UV-Vis dikisaran 400–450 nm yang merupakan spektrum UV-Vis dari nanopartikel perak. Selanjutnya, nanopartikel perak hasil biosintesis menggunakan air rebusan daun *Diospyros blancoi* (Bisbul) dimodifikasi dengan ligan polivinil alkohol (PVA) dan L-sisteina menjadi larutan indikator. Waktu pencampuran dan konsentrasi ligan dengan nanopartikel perak divariasikan. Larutan indikator tersebut diujikan terhadap larutan ion-ion logam Cu^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} , dan Zn^{2+} pada beberapa konsentrasi. Hasil yang diperoleh menunjukkan pengujian indikator tertentu menghasilkan perubahan warna pada deteksi Cu^{2+} , Zn^{2+} , dan Hg^{2+} pada kadar 1000 ppm. Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya kecenderungan sensitifitas dan selektifitas dari larutan indikator terhadap keberadaan ketiga ion logam tersebut.

Kata Kunci: Biosintesis; indikator kolorimetri; ligan; logam berat; nanopartikel perak; senyawa metabolit sekunder.

ABSTRACT

Name : Windri Handayani
 Study Program : Biology
 Title : Utilization of Tropical Plants for Silver Nanoparticles
 Biosynthesis an Its Application for Heavy Metal Colorimetric
 Detection.

Tropical plants have high potential for environmentally friendly silver nanoparticle synthesis for many application in nanotechnology. Plants are known to have the ability for silver ion reduction resulting in silver particles sizes < 100 nm. These days, the detection and measurement of heavy metals pollution in an environment requires time, costly equipment, and labored process. This studies tried to obtain silver nanoparticles derived from biological method synthesis using tropical plants and application of the silver nanoparticles as colorimetric indicator. In this study, eight species of plants, mainly located in the tropical region, were used as biosynthetic agents to obtain silver nanoparticles. These plants including *Azadirachta indica* A. Juss (Neem), *Centella asiatica* (L.) Urban (Pennywort), *Cerbera manghas* L. (Sea mango), *Dillenia indica* L. (Elephant apple), *Diospyros blancoi* A. DC. (Velvet apple), *Murraya paniculata* (L.) Jack (Orange jasmine), *Pometia pinnata* J. R. Forst & G. Forst (Matoa), and *Phalleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. (the God's crown). The biosynthesis process of silver nanoparticles were conducted by boiling the fresh or dried leaves, then reacted with certain volume ratio of AgNO_3 . Silver nanoparticles were confirmed and characterized from the UV-Vis spectral result. The presence of plant's secondary metabolites groups such as alkaloids, phenols, saponins, terpenoids, and flavonoids were also tested from the leaves. UV-Vis spectral analysis showed that silver nanoparticles are formed in seven plant species. Further more, silver nanoparticles obtained from biosynthesis using *Diospyros blancoi* (Velvet apple) leaves broth was modified into indicator solution. The indicator was made by adding ligand polyvinyl alcohol (PVA) and also L-cysteine with silver nanoparticles. The indicator used to detect the presence of Cu^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} , dan Zn^{2+} kations. The testing result of certain modified indicator indicate sensitivity and selectivity to the presence of Cu^{2+} , Zn^{2+} and Hg^{2+} metal ions at 1000 ppm.

Keywords: Biosynthesis; colorimetric indicator; heavy metal; ligand ; silver nanoparticles; plant secondary metabolites.

Name: Windri Handayani (0806476980)

Date: 13 Juli 2011

Title: UTILIZATION OF TROPICAL PLANTS FOR SILVER
NANOPARTICLES BIOSYNTHESIS AND ITS APPLICATION FOR
HEAVY METAL COLORIMETRIC DETECTION.

Thesis Supervisor: Dr. Ing. Cuk Imawan; Dr. Susiani Purbaningsih, DEA.

SUMMARY

Nanoparticles synthesis is a way to obtain material in nanoscale (below 100 nm). Recently, nanoparticles synthesis is performed by using chemical and physical methods. These methods are laborious and used a non eco-friendly chemicals. Since year 2000, researchers have been trying to develop an eco-friendly synthetic methods by using biological agent, such as plant and microorganisms to form metal nanoparticles. Silver nanoparticles (AgNPs) is one of metal nanoparticles which have many potential applications, such as colorimetric indicator to detect heavy metal presence in an environment.

This research focused on the screening of eight potential plants for silver nanoparticles biosynthesis and its application for heavy metals colorimetry detection. Eight plants which were used as reduction agents in biosynthesis method are *Azadirachta indica* A. Juss (Neem), *Centella asiatica* (L.) Urban (Pennywort), *Cerbera manghas* L. (Sea mango), *Dillenia indica* L. (Elephant apple), *Diospyros blancoi* A. DC. (Velvet apple), *Murraya paniculata* (L.) Jack (Orange jasmine), *Pometia pinnata* J. R. Forst & G. Forst (Fijian longan), and *Phalleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. (the God's crown). These plants were collected from Faculty of Mathematic and Natural Sciences, University of Indonesia, Depok, West Java in January 2011. The leaves broth from each plant was mixed with AgNO₃ solution with ratio 5:45 (v:v). Spectrophotometer UV-Vis characterization results showed that Neem, Pennywort, Sea mango, Elephant apple, Velvet apple, Orange jasmine, and Fijian longan exclude the God's crown have potentials to produce silver nanoparticles. The silver nanoparticles can be identified in peak wavelength 370—500 nm.

The seven potential plants were used for further processes with vary conditions using their fresh and dried leaves broth, then added with certain volume ratio of AgNO_3 and leaves broth. The presence of silver nanoparticles were confirmed and characterized by spectrophotometer UV-Vis. The presence of plant's secondary metabolites groups such as alkaloids, phenols, saponins, terpenoids, and flavonoids were also tested from the leaves broth. These results used to predict which plant species have certain chemical compounds that are capable to reduce Ag^+ to perform silver nanoparticles. Thus, the processes that affect the particles formation, the reaction stability, the approximate size of nanoparticles and its relation with plants secondary metabolites will be studied further.

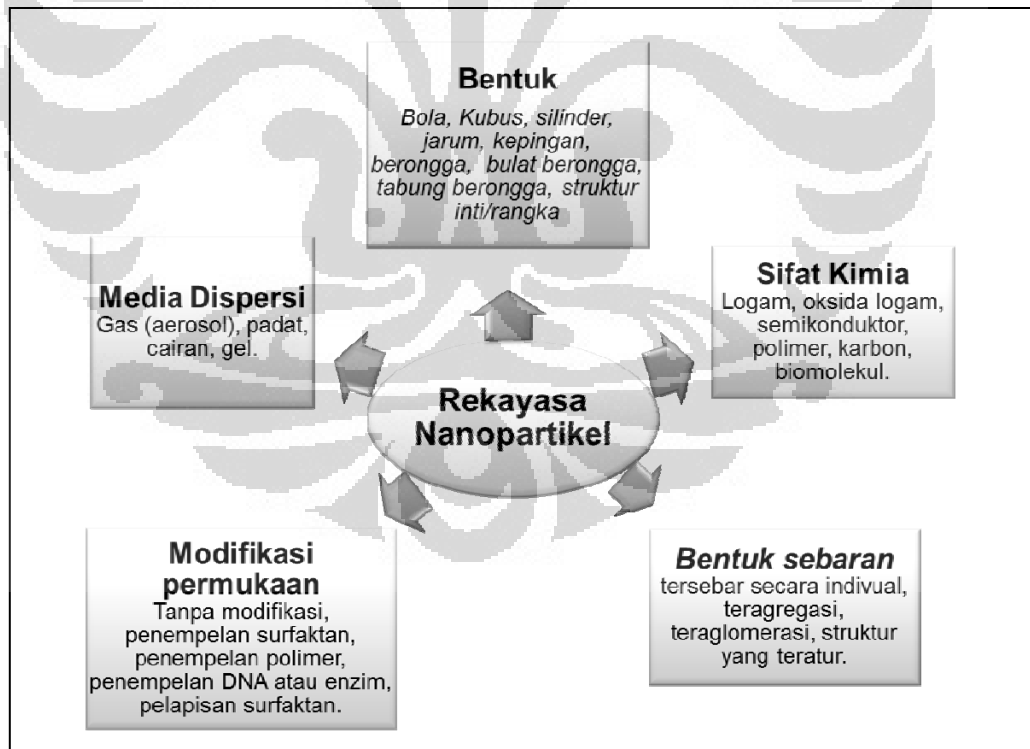
Dried leaves broth from Velvet apple was used to synthesized silver nanoparticles for colorimetric detection of heavy metals ion. These days, the detection and measurement of heavy metals pollution in an environment are time consuming, laborious, and need costly equipment. This study is aim to manage the utilization and application of the silver nanoparticles from biological syntetic method as colorimetric indicator in a practical methods. Indicator solution was made by adding different ligand. We have used polyvinyl alcohol (PVA) (polymer) and L-cysteine (amino acid) that we stirred those ligands with silver nanoparticles to make indicator solution. And then the indicator mixed with several kinds of metal ions for the test. The indicator was used to detect the presence of Cu^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} , and Zn^{2+} . The addition of PVA showed color changes and UV-Vis shifting in Cu^{2+} 1000 ppm detection. Meanwhile, the addition of L-cysteine showed the same result from detection of Zn^{2+} 1000 ppm. And then, both of modified indicators solutions with L-cysteine or PVA changed into clear solution in addtion of Hg^{2+} 1000 ppm. These results indicated the sensitivity and selectivity of the indicator solution to the presence of Cu^{2+} , Zn^{2+} , dan Hg^{2+} metal ions.

xiv + 84 pp.; plates; tables
Bilb.: 47 (1984-2011).

PENGANTAR PARIPURNA

A. Perkembangan Nanosains dan Nanoteknologi

Nanosains dan nanoteknologi telah mengalami perkembangan yang cukup pesat mulai awal tahun 2000. Nanosains ialah ilmu yang mempelajari sifat materi yang berukuran 1—100 nm ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$). Sementara itu, nanoteknologi ialah teknik untuk mendesain dan menyusun materi pada skala nano yang memungkinkan untuk memanfaatkan dan merekayasa struktur materi atom per atomnya (Thomas 2006; Yokoyama 2007). Pada skala tersebut modifikasi materi dapat dilakukan untuk menciptakan materi yang memiliki ukuran, struktur dan sifat yang dikehendaki dengan lebih efektif dan efisien. Materi berupa nanopartikel memiliki sifat yang unik, yang dapat dikontrol dan dimodifikasi baik ukuran, bentuk, sifat kimia serta fungsionalisasi permukaannya (Gambar A.1) (Roco 2003; Nagarajan 2008).



Gambar A.1. Hal-hal yang menjadi karakteristik unik dari nanopartikel.
[Sumber: Modifikasi dari Nagarajan 2008]

Nanopartikel merupakan materi yang berperan berperan sebagai *building block* dari pengembangan teknologi pada skala nano (Roco 2003; Yokoyama 2007). Nanopartikel dapat berupa logam, oksida logam, semikonduktor, polimer, dan senyawa organik. Materi-materi tersebut, selanjutnya dapat disusun menjadi sesuatu yang berukuran lebih besar dan memiliki struktur lebih kompleks untuk dijadikan peralatan tertentu yang dapat diaplikasikan di berbagai bidang (Tabel A.1). Kemampuan untuk memodifikasi partikel di tingkat atom, mampu membantu para peneliti untuk menyempurnakan teknologi yang telah ada ataupun mengembangkan teknologi baru (Roco 2003; Thomas 2006; Nagarajan 2008).

Tabel A.1. Aplikasi nanopartikel di beberapa bidang dan pemanfaatannya.

No	Bidang Aplikasi	Pemanfaatan
1	Kesehatan dan biomedis	a) <i>Drug delivery system</i> b) Pencitraan (MRI, <i>contrast agent</i>) c) Antibakteri d) Terapi kanker e) Penanda molekuler
2	Industri	a) Katalis bahan kimia b) Sensor kimia c) Pigmen nano d) Komposit
3	Elektronik	a) Penyimpan data b) Komputer kuantum c) Magnet berkekuatan tinggi
4	Energi terbarukan	a) Fotokatalisis hidrogen b) <i>Fuel cell catalysis</i> c) <i>Lithium ion battery elektroda</i>
5	Pangan dan pertanian	a) Fungisida b) Antioksidan c) Pengemasan makanan d) Sensor analisis kualitas dan keamanan makanan
6	Tekstil	a) Bahan antinoda b) Hibrid polimer alami dan sintesis c) Bahan penghantar listrik d) Bahan tahan panas
7	Lingkungan	a) Sensor polutan b) Katalis lingkungan c) Pengolahan limbah cair

[Sumber: Nagarajan 2008 & <http://www.deakin.edu.au/itri/nanotechnology/nanoparticles.php>]

Dengan ukuran yang lebih kecil, suatu nanopartikel logam mampu memiliki titik leleh yang lebih rendah ataupun dapat memiliki sifat medan magnet yang lebih kuat. Kemampuan partikel sebagai katalis juga dapat semakin meningkat seiring dengan bertambah luas permukaannya. Oleh karena kemampuan yang unik dari materi pada skala nano tersebut, para ahli komputer dapat mengembangkan sirkuit dan penyimpan memori dengan presisi yang baik tingkat atom. Sementara itu, para ahli bioteknologi mampu menyusun DNA ataupun protein untuk pengobatan ataupun sebagai penanda molekuler. Nanoteknologi juga berkembang seiring dengan berkembangnya mikroskop yang mampu mengamati struktur materi hingga tingkat atom (Poole Jr. & Owen 2003; Nagarajan 2008).

Pengembangan nanosains dan nanoteknologi merupakan hasil integrasi dari multidisiplin ilmu seperti kimia, fisika, dan biologi (Thomas 2006; Leela & Vivekananda 2008). Setiap disiplin ilmu tersebut memiliki peranan masing-masing dalam mendukung perkembangan dan pemanfaatan nanosains dan nanoteknologi. Menurut Roco (2003), seluruh komponen baik itu biologi maupun sistem buatan manusia tersusun mulai dari materi pada skala nano. Hal tersebut menjadi inspirasi untuk ditiru (*biomimetic*) dalam pengembangan dan aplikasi suatu teknologi. Contoh pada pembuatan nanopartikel logam dengan tahapan sintesis yang hampir serupa dengan prinsip-prinsip pada kemampuan tumbuhan mereduksi dan mengakumulasi logam dari lingkungan ke dalam jaringannya (Parsons *dkk.* 2007).

B. Biosintesis Nanopartikel Perak

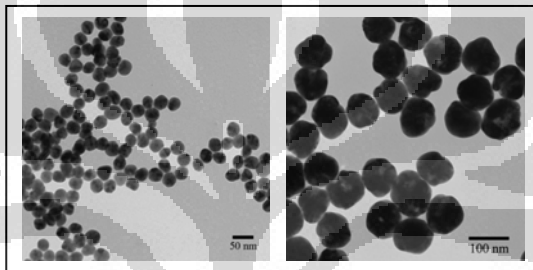
Preparasi material nanopartikel merupakan tahapan awal untuk pengembangan teknologi skala nano. Selama ini, preparasi material nanopartikel dilakukan melalui proses sintesis *bottom up* dengan cara disintesis secara kimiawi atau *top down* secara fisika untuk memperoleh jenis, ukuran, bentuk, dan komposisi nanopartikel yang diinginkan (Parsons *dkk.* 2007; Tolaymat *dkk.* 2010). Teknik *bottom up* dikenal pula sebagai proses *self assembly*, yang dilakukan dengan cara mencampurkan prekursor partikel yang dikehendaki dengan agen

pereduksi dan penstabil berupa bahan kimia anorganik, hingga terbentuk nanopartikel. Bahan-bahan yang digunakan seringkali beracun dan berbahaya bagi lingkungan (Parsons *dkk.* 2007; Kumar & Yadav 2009; Tolayamat *dkk.* 2010). Natrium tetraborohidrat, polivinilpirolidon (PVP) (Tolayamat *dkk.* 2010), benzena, tetraklorida karbon (Theodore & Kunzt 2005), dan sianida emas (Gardea-Torresdey *dkk.* 2003) merupakan contoh dari senyawa-senyawa beracun dan berbahaya. Senyawa-senyawa tersebut sulit untuk didegradasi sehingga dapat menjadi polutan bagi lingkungan (Parsons *dkk.* 2007; Bar *dkk.* 2009).

Selama 1 dekade ini, mulai dikembangkan pemanfaatan agen biologi seperti tumbuhan, cyanobacteria (Lengke *dkk.* 2007), bakteri, dan fungi (Ahmad *dkk.* 2003) untuk sintesis nanopartikel logam (Durán *dkk.* 2011). Nanopartikel logam tersebut antara lain emas, titanium, dan platinum (Parsons *dkk.* 2007). Sintesis nanopartikel dengan memanfaatkan makhluk hidup sebagai agen biologi pada proses sintesisnya dikenal sebagai biosintesis nanopartikel (Mohanpuria *dkk.* 2008; Kumar & Yadav 2009). Penggunaan agen biologi dalam proses sintesis ialah dengan memanfaatkan senyawa-senyawa organik yang terkandung dalam makhluk hidup. Hal tersebut cenderung lebih aman dan ramah lingkungan dibandingkan dengan penggunaan bahan-bahan kimia anorganik. Oleh karena itu, metode biosintesis dianggap sebagai teknologi yang ramah lingkungan (*eco-friendly*) (Li *dkk.* 2007; Leela & Vivekanandan 2008; Bar *dkk.* 2009; Kumar & Yadav 2009).

Proses biosintesis nanopartikel logam dengan memanfaatkan agen biologi, dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain jenis organisme, kemudian jenis dan konsentrasi pereduksi atau prekursor. Agen biologi diduga berperan sebagai pereduksi, penstabil, atau keduanya pada proses pembentukan nanopartikel (Chandran *dkk.* 2006; Tolayamat *dkk.* 2010). Biosintesis nanopartikel diduga melibatkan senyawa-senyawa organik seperti enzim (superoksida dismutase, katalase, glutathion, dan peroksidase), protein (metalotionin, fitokelatin) (Jha & Prasad 2010), dan karbohidrat (gula-gula pereduksi) ataupun kelompok senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan, seperti flavonoid dan triterpenoid (Shankar *dkk.* 2004).

Di tahun 2003, Gardea-Torresdey *dkk.*, mulai memanfaatkan tumbuhan alfafa (*Medicago sativa*) yang ditanam pada media dengan penambahan prekursor AgNO_3 sebagai sumber ion Ag^+ . Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa akar dari tumbuhan alfafa mampu mengabsorpsi perak sebagai Ag^0 dari media agar melalui suatu kanal dan kemudian ditransfer ke bagian tunas tumbuhan pada kondisi oksidasi yang sama. Kemudian atom-atom perak tersebut membentuk partikel berukuran < 100 nm melalui proses nukleasi dan beberapa di antaranya saling bergabung membentuk ukuran yang lebih besar hingga terakumulasi di dalam jaringan tumbuhan. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa tumbuhan mampu menyintesis nanopartikel perak.



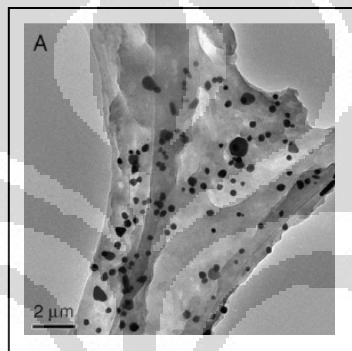
Gambar B.1. Foto TEM dari nanopartikel perak yang memiliki ukuran 20 nm (kiri) dan 80 nm (kanan). [Sumber: www.nanocomposix.com].

Nanopartikel perak (NPP) merupakan partikel logam perak yang memiliki ukuran < 100 nm (Gambar B.1). Pemilihan NPP sebagai produk luaran hasil biosintesis berdasar pada potensinya yang luas untuk dikembangkan dalam berbagai bidang aplikasi. Selain itu, perak merupakan salah satu logam mulia yang memiliki kualitas optik yang cukup baik setelah emas dengan harga yang lebih terjangkau. Kelemahan dari NPP terletak pada sifatnya yang sedikit tidak stabil dibandingkan dengan nanopartikel emas (Caro *dkk.* 2010). Selain itu, potensi pengembangan NPP di berbagai bidang terbuka luas, di antaranya sebagai sensor (Wang *dkk.* 2010) dan antibiotik (Dubey *dkk.* 2009).

C. Pemanfaatan Tumbuhan untuk Biosintesis Nanopartikel Perak

Pemanfaatan tumbuhan dalam proses sintesis NPP di Indonesia sendiri merupakan hal yang baru. Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian awal yang diharapkan mampu membuka peluang pemanfaatan tumbuhan tropis yang

terdapat di Indonesia sebagai agen biosintesis NPP. Beberapa jenis tumbuhan telah diketahui memiliki kemampuan sebagai agen pereduksi ion logam pada proses biosintesis, seperti *Azadirachta indica* (Shankar dkk. 2004), *Aloe vera* (Chandran dkk. 2006), *Capsicum annuum* (Li dkk. 2007), *Diospyros kaki* (Song dkk. 2009), dan *Murraya koenigii* (Philip dkk. 2011), serta banyak tumbuhan lainnya (Lampiran 1). Hingga pertengahan tahun 2011, jenis-jenis tumbuhan yang digunakan untuk biosintesis nanopartikel masih beragam. Hal tersebut membuka peluang pemanfaatan dan penentuan potensi jenis-jenis tumbuhan lain yang dapat digunakan untuk biosintesis nanopartikel.



Gambar C.1. Nanopartikel emas pada biomassa tumbuhan
[Sumber: Parsons dkk. 2007]

Biosintesis nanopartikel dapat terjadi baik dengan memanfaatkan tumbuhan hidup, biomassa tumbuhan (Gambar C.1.), dan ekstrak tumbuhan. Proses reduksi ion Ag^+ menjadi nanopartikel dapat terjadi di dalam atau di luar sel (Parsons dkk. 2007). Pemanfaatan tumbuhan hidup telah dilakukan oleh Gardea-Torresdey dkk. (2003) serta Haverkamp dan Marshall (2009) untuk biosintesis nanopartikel logam. Prekursor berupa larutan logam dapat ditambahkan ke dalam medium pertumbuhan. Beberapa pertanyaan muncul terkait dengan apakah nanopartikel tersebut terbentuk di luar atau di dalam tumbuhan. Haverkamp & Marshall (2009) meyakini bahwa nanopartikel tersebut terbentuk di akar lalu ditransport dalam tumbuhan dan diakumulasi dalam sel tumbuhan seperti pendapat Gardea-Torresdey dkk. (2003). Namun demikian, proses tersebut masih kesimpulan sementara. Di luar sel, proses biosintesis dilakukan dengan mereaksikan ion logam dengan air rebusan (Shankar dkk. 2004; Chandran dkk. 2006, Song dkk. 2010) ataupun ekstrak tumbuhan (Dubey dkk. 2009). Bagian

tumbuhan yang digunakan dapat berupa daun (Shankar *dkk.* 2004, Philip 2010), buah (Jain *dkk.* 2009), ataupun biji (Kumar *dkk.* 2010).

Dalam penelitian ini akan digunakan 8 jenis tumbuhan untuk biosintesis NPP. Kedelapan jenis tumbuhan tersebut ialah *Azadiracta indica* A. Juss (Mimba), *Centella asiatica* (L.) Urban (pegagan), *Cerbera manghas* L. (Bintaro), *Dillenia indica* L. (Dillenia), *Diospyros blancoi* A. DC. (Bisbul), *Murraya paniculata* (L.) Jack (Kemuning), *Pometia pinnata* J. R. Forst & G. Forst (Matoa), dan *Phalleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. (Mahkota dewa). Mimba yang sebelumnya telah digunakan oleh Shankar *dkk.* (2004) untuk biosintesis NPP akan digunakan sebagai pembanding. Pemilihan jenis-jenis tumbuhan lainnya berdasarkan pertimbangan kesamaan genus untuk jenis *Diospyros* (Song *dkk.* 2009) dan *Murraya* (Philip 2011), selain senyawa bioaktif yang terkandung pada tumbuhan tersebut. Pertimbangan lainnya ialah berdasarkan keberadaannya yang memungkinkan untuk stok yang kontinu serta potensi pemanfaatan lain dari tumbuhan yang terdapat di lingkungan Kampus FMIPA UI, Depok.

Penelitian yang dilakukan mengadopsi penelitian Shankar *dkk.* (2004), yang berhasil memperoleh NPP dengan menggunakan air rebusan daun Mimba sebagai agen pereduksi. Bagian tanaman yang digunakan ialah daun segar dengan berat sebanyak 10 g dan direbus dengan 50 ml akuabides. Jumlah larutan yang dicampurkan untuk biosintesis NPP terdiri dari 45 ml AgNO_3 1 mM dan 5 ml air rebusan daun. NPP yang terbentuk diamati dari adanya perubahan warna secara visual sejak pencampuran dan berdasarkan hasil karakterisasi dengan spektrofotometer UV-Vis di waktu-waktu tertentu, yaitu 15 menit, 1 jam, 4 jam, dan 24 jam. Jika NPP terbentuk, maka larutan akan berubah warna menjadi kekuningan, serta hasil spektrofotometer berada di kisaran 400—500 nm (Chandran *dkk.* 2006; Solomon *dkk.* 2007; Leela & Viveekandan 2008). Ukuran NPP diperkirakan dari hasil spektrofotometer UV-Vis dengan mengacu Solomon *dkk.* (2007).

Selanjutnya dari 8 jenis tumbuhan, akan dipilih jenis tumbuhan yang terbukti berpotensi untuk biosintesis NPP. Kemudian, dari beberapa variabel yang memengaruhi proses biosintesis akan dilakukan modifikasi dua variabel, yaitu penggunaan daun segar maupun daun kering, rasio volume air rebusan daun

dengan volume AgNO_3 . Penggunaan daun kering diharapkan memudahkan penyimpanan stok bahan tanaman yang akan digunakan.

D. Karakterisasi Nanopartikel Perak dan Kelompok Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan

Karakterisasi nanopartikel dilakukan untuk mengetahui sifat-sifat dan struktur dari materi yang terbentuk. Nanopartikel memiliki berbagai macam bentuk dan ukuran. Nanopartikel logam umumnya memiliki karakteristik yang unik, seperti spektrum absorbansinya yang spesifik untuk jenis nanopartikel logam tertentu. Selanjutnya, bagaimana nanopartikel berasosiasi dengan molekul lain juga dapat dipelajari dengan menggunakan berbagai peralatan yang disesuaikan dengan tujuannya. Peralatan yang bersifat mikroskopik digunakan untuk mengetahui bentuk, sebaran, dan distribusi ukuran dari nanopartikel. Sementara peralatan yang bersifat spektroskopi digunakan untuk mengetahui spektrum absorbansi dan interaksi dengan senyawa tertentu (Patakfalvi *dkk.* 2004; Kumar & Yadav 2008).

Karakterisasi nanopartikel dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai macam peralatan, antara lain spektrofotometer UV-vis, FTIR (Fourier Transform Infrared), TEM (Transmission Electron Microscope), AFM (Atomic Force Microscope), XRD (X-ray diffraction) (Chandran *dkk.* 2006; Bar *dkk.* 2009), serta SERS (Raman Spectroscopy) (Kumar & Yadav 2009) dan SEM (Scanning Electron Microscope) (Leela & Vivekanandan 2008). Pada penelitian ini karakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan untuk mengkonfirmasi terbentuknya NPP.

Spektrofotometer UV-Vis merupakan alat yang selalu digunakan untuk mengkonfirmasi terbentuknya NPP. Alat tersebut dapat digunakan untuk mengetahui karakteristik unik dari nanopartikel yang terbentuk berdasarkan spektrum puncak absorbansinya dari waktu ke waktu. Nilai spektrum puncak absorbansi dari NPP umumnya dikisaran 400--500 nm, sementara nanopartikel emas memiliki spektrum di kisaran 550 nm (Solomon *dkk.* 2007; Leela & Vivekanandan 2008). Spektrum tersebut menunjukkan karakter dari *surface*

plasmon resonance (SPR) dari partikel berukuran nano (Leela & Vivekanandan 2008; Kumar & Yadav 2009). SPR merupakan hasil eksitasi dari *surface plasmon vibration* oleh cahaya terhadap suatu struktur logam yang berukuran nanometer (Shankar *dkk.* 2004; Kholoud *dkk.* 2009). Pertambahan nilai absorbansi juga dapat diamati seiring dengan bertambahnya waktu reaksi dan konsentrasi dari ekstrak tumbuhan dengan ion perak yang juga menunjukkan laju reaksi.

Dari hasil spektrofotometer, nilai absorbansi dapat menunjukkan secara perkiraan jumlah NPP yang terbentuk. Sementara spektrum panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) dapat menunjukkan sebaran ukuran dari nanopartikel yang dihasilkan. Dari grafik kurva Gaussian hasil spektrofotometer juga dapat dihitung *Full width at half maximum* (FWHM) yang merupakan nilai lebar (*boardening*) dari setengah puncak. Tabel D.1. menunjukkan kisaran ukuran NPP yang dihasilkan berdasarkan nilai λ_{maks} dan FWHM.

Tabel D.1. Panjang gelombang pada absorbansi maksimum menunjukkan kisaran ukuran nanopartikel

Ukuran partikel (nm)	λ_{maks} (nm)	FWHM (nm)
10—14	395—405	50—70
35—50	420	100—110
60—80	438	140—150

[Sumber: Solomon *dkk.* 2007]

Pada penelitian ini dilakukan analisis kandungan kelompok senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan melalui pengujian dengan pereaksi kimia (Dubey *dkk.* 2009) dan melalui beberapa studi literatur. Secara kualitatif akan dilakukan pengujian untuk mendeteksi adanya senyawa kelompok alkaloid, flavanoid, triterpenoid, saponin, dan fenol (Harbourne 1984). Keberadaan kelompok senyawa metabolit sekunder tertentu diduga berperan dalam proses biosintesis. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui apakah tumbuhan yang digunakan mengandung senyawa tertentu mampu mereduksi Ag^+ menjadi NPP. Sejauh ini tumbuhan yang mengandung kelompok flavanoid dan terpenoid diduga mampu mereduksi ion perak (Shankar *dkk.* 2004; Jha *dkk.* 2009).

Pemeriksaan senyawa metabolit sekunder dapat dilakukan berdasarkan warna yang terbentuk dari hasil reaksi ekstrak tumbuhan dengan pereaksi tertentu. Reaksi tersebut akan menghasilkan warna-warna yang khas sesuai dengan kelompok senyawa metabolitnya. Beberapa pemeriksaan dengan menggunakan

pereaksi kimia yang dapat dilakukan antara lain, pemeriksaan adanya kelompok senyawa alkaloid, triterpenoid, steroid, flavonoid, fenol, dan saponin. Untuk pemeriksaan kelompok senyawa alkaloid digunakan pereaksi Mayer dan Dragendorff, kelompok senyawa triterpenoid dan steroid digunakan pereaksi Libermann-Burchard, untuk kelompok flavonoid, fenolik, dan saponin, masing-masing dengan asam klorida pekat ditambahkan dengan serbuk magnesium, besi (III) klorida, dan asam klorida pekat (Harbourne 1984; Depkes 1995).

E. Aplikasi Nanopartikel sebagai Indikator Kolorimetri Logam Berat

Tingkat polusi yang semakin tinggi saat ini turut mengancam kelangsungan ekosistem dan biodiversitas yang ada. Logam berat merupakan salah satu di antara sekian banyak polutan penyebab kerusakan lingkungan. Logam berat dapat terakumulasi di lingkungan dan rantai makanan hingga masuk ke dalam tubuh makhluk hidup. Pada kadar yang rendah logam berat dibutuhkan oleh tubuh. Namun demikian, dalam jumlah yang tinggi logam berat dapat memicu dan mengakibatkan keracunan. Keracunan logam berat dapat berakibat terhambatnya pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme, tumbuhan dan berakibat serius bagi kesehatan manusia dan hewan. Dalam kondisi tertentu, logam berat dapat mengganggu fungsi sistem syaraf, kelainan darah, serta memengaruhi fungsi paru, ginjal, hati, maupun organ lainnya (Evangelou 1998; Kvesitadze *dkk.* 2006; Chai *dkk.* 2010).

Logam berat ialah suatu zat yang memiliki densitas molekul lebih dari 3 g/cm³. Logam berat yang umum mencemari lingkungan dapat dilihat pada Tabel E.1. (Evangelou 1998). Faktor yang menyebabkan logam berat tersebut dikelompokkan ke dalam zat pencemar ialah logam berat tidak dapat terurai melalui biodegradasi seperti pencemar yang berasal dari bahan organik. Logam berat dapat terakumulasi dalam lingkungan terutama dalam sedimen sungai dan laut, karena mampu berikatan dengan senyawa organik dan anorganik, melalui proses adsorpsi dan pembentukan senyawa kompleks, seperti radikal bebas (Evangelou 1998; Tarigan *dkk.* 2003; Bradl 2005).

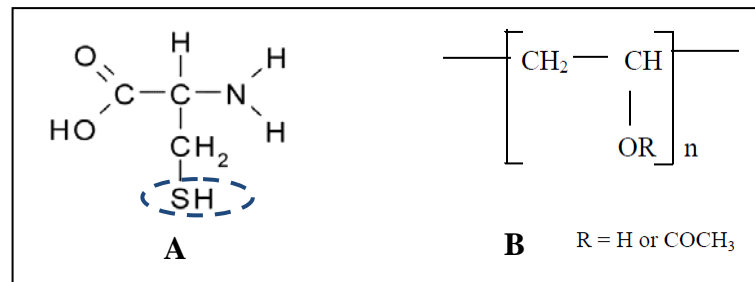
Tabel E.1. Aktivitas industri dan kontaminasi logam berat yang mencemari lingkungan

Industri	Kontaminasi logam di lingkungan
Daur ulang baterai	Cd, Cu, Ni, Pb, Zn
Bahan kimia/farmasi	As, Cd, Cr, Cu, Hg, Pb
Bahan bakar fosil/energi	As, Be, B, Cd, Hg, Ni, Pb, Se
Elektronik	As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Pb, Zn.
Minyak dan pelarut kimiawi	As, Cr, Pb, Zn
Cat	Cd, Co, Cr, Hg, Pb
Pengawetan kayu	As, Cr, Cu.

[Sumber: Evangelou (1998)]

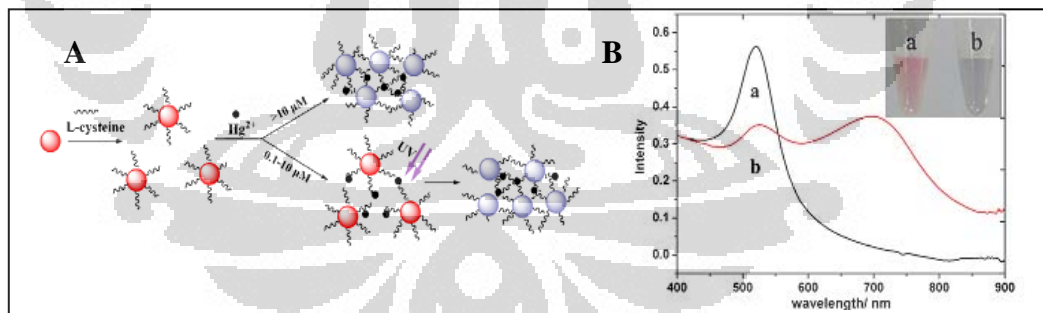
Selama ini, proses identifikasi dan analisis logam berat yang mencemari lingkungan membutuhkan waktu dan peralatan yang kurang praktis karena tidak dapat langsung dilakukan di lapangan. Oleh karena itu, perlu dikembangkan suatu metode yang lebih praktis dalam mendeteksi keberadaan logam berat secara sederhana, akurat, dan cepat. Terkait hal tersebut NPP diketahui memiliki kemampuan sebagai indikator kolorimteri. NPP memiliki sifat optis yang unik sehingga dapat dimodifikasi menjadi sensor kolorimetri keberadaan logam berat. Sensor kolorimetri cukup diminati karena sederhana, sensitif, murah, cepat, dan tidak membutuhkan alat yang rumit (Wang *dkk.* 2010b).

Prinsip dari indikator kolometrik berdasarkan pada sifat unik dari SPR suatu nanopartikel logam dan kemampuannya beragregasi (saling berikatan). Hal tersebut memungkinkan untuk diaplikasikan dalam analisis biomolekuler dan ion logam dengan difungsionalisasikan (modifikasi) menggunakan ligan yang tepat (Caro *dkk.* 2010; Wang *dkk.* 2010b). Ligan tersebut dapat berupa asam amino, DNA atau senyawa organik lainnya (Jiang & Yu 2008), dan polimer (Caro *dkk.* 2010). Selanjutnya, NPP dan ligan tersebut akan bereaksi dan mendeteksi keberadaan ion logam berat tertentu hingga terjadi perubahan warna dan pergeseran SPR. Huang & Chang (2006), Li *dkk.* (2009), dan Wang *dkk.* (2010a), telah berhasil memodifikasi nanopartikel emas dan perak menjadi indikator kolometrik untuk mendeteksi ion Hg^{2+} .



Gambar E.1. Struktur L-sisteina (A) dan PVA (B)
[Sumber: <http://www.proprofs.com> dan Saxena (2004)]

Selama ini, NPP yang digunakan untuk indikator kolorimetri berasal dari hasil sintesis secara kimia. Dalam penelitian ini digunakan NPP hasil biosintesis dari tumbuhan terpilih. NPP tersebut akan dimodifikasi dengan penambahan ligan berupa polimer dan asam amino, yaitu PVA (polivinil alkohol) dan L-sisteina untuk mengetahui kemampuannya mendeteksi keberadaan logam berat dalam suatu larutan. Gugus $-SH$ pada L-sisteina diduga berperan untuk berikatan dengan logam (Gambar E.1.) (Chai *dkk.* 2010; Caro *dkk.* 2010). Selanjutnya larutan indikator akan diujikan untuk mendeteksi logam berat. Metode yang digunakan merupakan modifikasi dari Huang & Chang (2006), Han & Li (2010) serta Wang *dkk.* (2010a).



Gambar E.2. Modifikasi nanopartikel emas menggunakan L-sisteina sebagai ligan untuk deteksi Hg^{2+} (A); pergeseran puncak absorpsi dan perubahan warna yang terjadi saat pengujian (B); (a) warna larutan indikator; (b) larutan indikator berubah warna setelah penambahan Hg^{2+} [Sumber: Chai *dkk.* 2010].

Penempelan ligan dilakukan dengan cara diaduk selama 2 jam sebagai perlakuan mekanis untuk menempelkan ligan pada permukaan NPP (Chai *dkk.* 2010). Kemudian, untuk mengetahui selektifitas ligan terhadap logam berat lain dilakukan pula pengujian dengan direaksikan terhadap beberapa jenis ion logam berat, yaitu ion Hg^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} , dan Zn^{2+} masing-masing pada kadar 0,1;

1; 10; 100; dan 1000 ppm. Jika terdapat ion logam berat tertentu maka larutan yang bereaksi akan menunjukkan warna yang khas dan hasil pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan pergeseran panjang gelombang. Contoh perubahan warna larutan indikator dari warna merah menjadi berwarna biru setelah penambahan ion Hg^{2+} (Gambar E.2).

Secara umum tujuan dari penelitian yang dilakukan ialah sebagai berikut.

1. Mengetahui jenis tumbuhan uji yang dapat digunakan untuk biosintesis NPP.
2. Mengetahui pengaruh variabel penggunaan bahan tanaman dalam kondisi segar dan kering serta rasio volume air rebusan dengan volume AgNO_3 pada proses biosintesis.
3. Mengetahui apakah senyawa metabolit sekunder kelompok alkaloid, flavanoid, terpenoid, saponin, dan fenol terkandung pada tumbuhan uji.
4. Mengetahui karakter dari NPP hasil biosintesis berupa perkiraan ukuran dan jumlah.
5. Menggunakan NPP hasil biosintesis sebagai indikator klorimetrik logam berat.

Tesis ini terdiri dari dua bagian makalah yang masing-masing berjudul.

1. Pemanfaatan tumbuhan tropis untuk biosintesis NPP.
2. Potensi pemanfaatan NPP hasil biosintesis sebagai indikator kolorimetri keberadaan logam berat.

Makalah I

PEMANFAATAN TUMBUHAN TROPIS UNTUK BIOSINTESIS NANOPARTIKEL PERAK

Utilization of Tropical Plants for Silver Nanoparticles Biosynthesis

Windri Handayani

wind_hany@yahoo.com

ABSTRACT

Tropical plants have high potential for environmentally friendly silver nanoparticle synthesis for many application in nanotechnology. Plants are known to have the ability for silver ion reduction resulting in silver particles sizes < 100 nm. In this study, eight species of plants, mainly located in the tropical region, were used as biosynthetic agents to obtain silver nanoparticles. These plants including *Azadirachta indica* A. Juss (Neem), *Centella asiatica* (L.) Urban (Pennywort), *Cerbera manghas* L. (Sea mango), *Dillenia indica* L. (Elephant apple), *Diospyros blancoi* A. DC. (Velvet apple), *Murraya paniculata* (L.) Jack (Orange jasmine), *Pometia pinnata* J. R. Forst & G. Forst (Matoa), and *Phalleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. (the God's crown). The biosynthesis process of silver nanoparticles were conducted by boiling the fresh or dried leaves, then reacted with certain volume ratio of AgNO₃. The presence of silver nanoparticles were confirmed and characterized by spectrophotometer UV-Vis . The presence of plant's secondary metabolites groups such as alkaloids, phenols, saponins, terpenoids, and flavonoids were also tested from the leaves. UV-Vis spectral analysis showed that silver nanoparticles are formed in seven plant species. Thus, the processes reveal to affect the particles formation, the reaction stability, the approximate size of nanoparticles and its relation with plants secondary metabolites will be studied further.

Keywords: biosynthesis; silver nanoparticles; secondary metabolites; tropical plants; UV-Vis spectrophotometry.

1. PENDAHULUAN

Nanopartikel ialah materi berukuran 1—100 nm yang memiliki peran cukup signifikan di bidang nanoteknologi. Materi tersebut berperan sebagai *building block* dalam pengembangan teknologi skala nano (Yokoyama 2007;

Nagarajan 2008). Pada skala nano, struktur dan sifat materi dapat dimodifikasi sesuai dengan yang dikehendaki menjadi suatu komponen tertentu untuk aplikasi di berbagai bidang. Nanopartikel dapat digunakan sebagai indikator pencemar dan untuk remediasi lingkungan, antibiotik, terapi kanker, dan juga katalis. Namun demikian, hingga saat ini masih teknologi tersebut terus menerus dikaji keefektifan dan keamanannya (Roco 2003; Mohanpuria *dkk.* 2008; Kumar & Yadav 2009).

Nanopartikel dapat berupa logam, oksida logam, semikonduktor, polimer, material karbon, atau pun senyawa-senyawa organik (Parsons *dkk.* 2007; Kumar & Yadav 2009). Nanopartikel perak (NPP) merupakan salah satu jenis nanopartikel logam yang pemanfaatannya cukup luas diberbagai aplikasi yang telah disebutkan sebelumnya. Untuk memperoleh NPP selama ini dilakukan melalui proses sintesis dengan teknik *bottom up*, yang merupakan sintesis secara kimia. Teknik *bottom up* dikenal pula sebagai proses *self assembly*, yang dilakukan dengan cara mencampurkan garam perak dengan agen pereduksi dan penstabil berupa bahan kimia anorganik hingga terbentuk nanopartikel (Tolaymat *dkk.* 2010). Namun demikian, bahan-bahan yang digunakan umumnya bersifat racun dan berbahaya bagi lingkungan, seperti natrium tetraborohidrat (Solomon *dkk.* 2007; Tolaymat *dkk.* 2010), benzena, dan tetraklorida karbon (Theodore & Kunz 2005). Senyawa-senyawa tersebut memiliki kemampuan untuk mereduksi ion Ag^+ menjadi partikel perak yang berukuran di bawah 100 nm.

Kemampuan untuk mereduksi ion logam tertentu ternyata juga dimiliki beberapa jenis tumbuhan dan mikroorganisme. Tumbuhan dan mikroorganisme diketahui juga dapat dimanfaatkan untuk remediasi lingkungan yang tercemar oleh logam. Berdasarkan hal tersebut, dikembangkanlah pemanfaatan berbagai jenis mikroorganisme (Mukerjee *dkk.* 2001) dan tumbuhan (Gardea-Torresdey *dkk.* 2003; Shankar *dkk.* 2004) untuk sintesis nanopartikel logam. Metode tersebut ternyata dapat menjadi alternatif produksi nanopartikel yang ramah lingkungan (*eco-friendly*) karena mampu meminimalisir penggunaan bahan-bahan anorganik yang berbahaya dan sekaligus limbahnya. Proses sintesis nanopartikel dengan memanfaatkan makhluk hidup dikenal sebagai biosintesis (Kumar & Yadav 2009).

Pemanfaatan tumbuhan sebagai agen biosintesis nanopartikel, diduga berdasarkan kemampuan tumbuhan dalam menyerap ion logam dari lingkungan. Ion-ion tersebut akan tereduksi melalui proses metabolisme yang kompleks dan diakumulasi pada organ-organ tertentu (Gardea-Torresdey *dkk.* 2003; Kesharwani *dkk.* 2009). Beberapa jenis tumbuhan telah digunakan dalam proses biosintesis nanopartikel perak, di antaranya ialah *Azadirachta indica* (Shankar 2004), *Aloe vera* (Chandran *dkk.* 2006), *Datura metel* (Kesharwani *dkk.* 2009), *Helianthus annuus* (Leela & Vivekanada 2008), *Diospyros kaki* (Song & Kim 2009), *Syzygium cummini* (Kumar *dkk.* 2010), dan *Murraya koenigii* (Philip *dkk.* 2011). Tumbuhan tersebut dapat digunakan dalam bentuk air rebusan (Shankar *dkk.* 2004; Chandran *dkk.* 2006), ekstrak (Dubey *dkk.* 2009; Kasthuri *dkk.* 2009) atau pun biomasnya (Mukerjee *dkk.* 2001).

Indonesia sebagai negara yang kaya dengan sumber daya alam dan keanekaragaman hayati memiliki potensi untuk penelitian yang terkait dengan eksplorasi pemanfaatan tumbuhan sebagai agen biosintesis nanopartikel. Jenis-jenis tumbuhan tertentu diduga mengandung senyawa kimia yang dapat berperan sebagai agen pereduksi. Namun demikian, senyawa kimia yang berperan penting dalam proses biosintesis masih menjadi pertanyaan. Senyawa-senyawa metabolit sekunder, seperti terpenoid (Shankar *dkk.* 2004) dan flavanoid (Jha *dkk.* 2009) diduga berperan dalam proses biosintesis nanopartikel perak. Walaupun demikian, telah ada beberapa penelitian yang menggunakan senyawa metabolit sekunder tertentu untuk biosintesis nanopartikel perak. Kasthuri *dkk.* (2009) menggunakan ekstrak philantin dari tanaman *Phyllanthus amarus* untuk biosintesis nanopartikel emas dan perak.

Pada penelitian ini telah dilakukan eksperimen untuk mengamati potensi delapan jenis air rebusan tumbuhan sebagai agen pereduksi perak dan variasi beberapa faktor yang memengaruhi proses biosintesis, seperti rasio volume prekursor AgNO₃ dengan air rebusan dan penggunaan daun segar maupun kering. Hasil penelitian ini akan digunakan sebagai pijakan untuk preparasi nanopartikel secara biosintesis dan selanjutnya akan diaplikasikan sebagai indikator kolorimetri logam berat.

2. BAHAN DAN CARA KERJA

2.1. Bahan dan sintesis nanopartikel perak

Tanaman yang digunakan sebagai bahan terdiri dari 8 jenis, yaitu *Azadiracta indica* (Mimba), *Centella asiatica* (Pegagan), *Cerbera manghas* (Bintaro), *Dillenia indica* (Dillenia), *Diospyros blancoi* (Bisbul), *Murraya paniculata* (Kemuning), *Pometia pinnata* (Matoa), dan *Phalleria macrocarpa* (Mahkota dewa). Tanaman tersebut tumbuh di lingkungan kampus FMIPA UI, Depok, Jawa Barat. Pengambilan tanaman dilakukan di bulan Januari 2011.

2.1.1. Pembuatan air rebusan dari daun segar

Daun yang sehat dan segar dipetik dari tanaman. Daun tersebut dicuci hingga bersih dengan akuades. Kemudian daun dikeringanginkan hingga tiris dari air cucuannya. Daun lalu dipotong-potong dan ditimbang seberat 10 gram. Potongan daun direbus dengan 50 mL akuabides dalam Erlenmeyer 500 mL. Rebusan daun dibiarkan mendidih selama 5 menit. Setelah mencapai suhu ruang, air rebusan dituang dan disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman No.1. Filtrat air rebusan tersebut selanjutnya digunakan untuk proses biosintesis (Shankar *dkk.* 2004). Filtrat air rebusan selanjutnya dapat disimpan pada suhu 6 °C selama 2 pekan.

2.1.2. Pembuatan air rebusan dari daun kering

Daun yang telah dipetik melalui proses yang sama seperti sebelumnya. Setelah air cucuannya tiris. Selanjutnya, daun dikeringkan pada suhu 40 ± 2 °C. Daun yang telah kering dipotong-potong dan ditimbang seberat 1 gram. Potongan daun tersebut direbus dengan 50 mL akuabides dalam Erlenmeyer 500 mL. Selanjutnya proses perebusan sama dengan pada daun segar.

2.1.3. Sintesis nanopartikel perak

Tahapan awal dilakukan seleksi jenis tumbuhan yang dapat digunakan untuk biosintesis nanopartikel perak. Sintesis dilakukan dengan cara mencampurkan prekursor perak dengan air rebusan daun diperoleh dari Duchefa-Biochemies Belanda. Sebanyak 45 mL larutan AgNO_3 1 mM dicampurkan dengan 5 mL air rebusan daun segar. Campuran larutan tersebut disimpan pada suhu ruang. Pada tahapan selanjutnya dipelajari beberapa parameter proses yang memengaruhi proses biosintesis, yaitu penggunaan air rebusan dari daun segar atau kering, serta rasio volume campuran air rebusan dengan AgNO_3 . Rasio yang diujikan ialah 1:5; 1:10; dan 1:20 (v:v). Seluruh pengamatan dilakukan pada waktu 15 menit, 1 jam, 4 jam, 24 jam dan 1 pekan.

2.2. Karakterisasi hasil biosintesis nanopartikel perak dan kelompok senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan tumbuhan

Karakter yang diamati selama proses biosintesis meliputi perubahan warna larutan, karakter spektroskopi menggunakan spektrofotometer UV-Vis, pH larutan, dan kandungan kelompok senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan. Perubahan warna larutan diamati secara visual selama waktu reaksi. Sementara pH larutan dimonitor dari waktu ke waktu.

2.2.1. Karakterisasi hasil biosintesis dengan UV-Vis

Karakterisasi hasil biosintesis dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis (Thermo Genesys 10S UV-Vis) yang memiliki resolusi 1 nm. Spektrum absorpsi diamati pada jangkauan panjang gelombang 280–700 nm. Pengamatan ini dilakukan pada waktu 15 menit, 1 jam, 4 jam, 24 jam, dan 1 pekan.

2.2.2. Deteksi kelompok senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan

Dari delapan jenis tumbuhan yang digunakan, dilakukan pengujian untuk mendeteksi keberadaan 5 kelompok senyawa metabolit sekunder, yaitu kelompok alkaloid, terpenoid, saponin, flavanoid, dan fenol. Metode pengujian mengacu pada Harbourne (1984) dan Depkes (2005) untuk menguji adanya kelompok senyawa metabolit tersebut. Pengujian kelompok senyawa alkaloid dilakukan dengan menggerus daun segar lalu direaksikan dengan peraksi Meyer dan peraksi Bouchardat. Pengujian kelompok senyawa terpenoid digunakan peraksi Libermann-Burchard dari gerusan daun segar. Sementara untuk kelompok flavonoid, fenol, dan saponin, masing-masing dengan asam klorida pekat ditambahkan dengan serbuk magnesium, besi (III) klorida, dan asam klorida pekat dari air rebusan daun segar maupun kering.

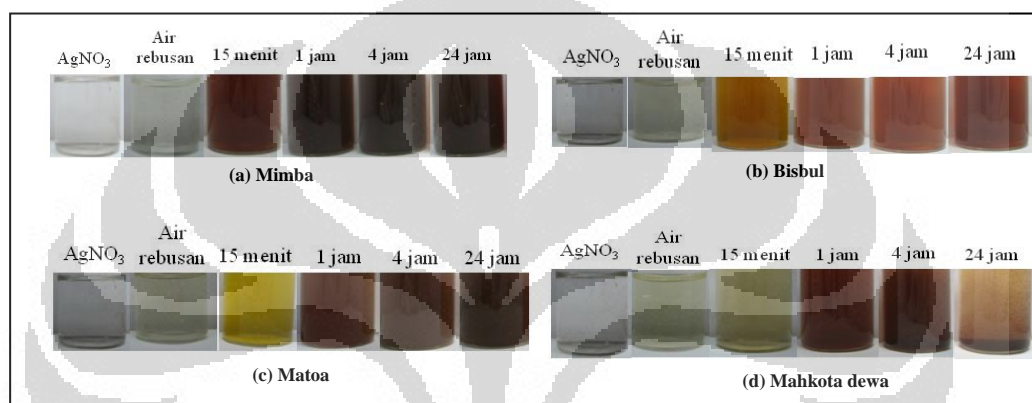
3. HASIL

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh karakter terkait beberapa parameter berikut, yaitu perubahan warna larutan, spektrum UV-Vis, pengaruh waktu terhadap spektrum UV-Vis, pengaruh jenis daun segar dan kering terhadap spektrum UV-Vis, pengaruh rasio prekursor perak dengan air rebusan, dan hasil deteksi senyawa metabolit sekunder.

3.1. Perubahan Warna Larutan Hasil Biosintesis

Terbentuknya nanopartikel secara umum ditandai dengan adanya perubahan warna larutan menjadi kuning hingga kecokelatan dari waktu ke waktu (Gambar 3.1.1). Proses biosintesis dilakukan dengan mencampurkan filtrat dari air rebusan dengan larutan AgNO_3 1 mM pada perbandingan 5:45 (v:v) (Shankar *dkk.* 2004). Hasil yang diperoleh menunjukkan 15 menit sesudah pencampuran, campuran larutan AgNO_3 dengan air rebusan Mimba dan Matoa memperlihatkan adanya perubahan warna dari kekuningan hingga kecokelatan ataupun coklat

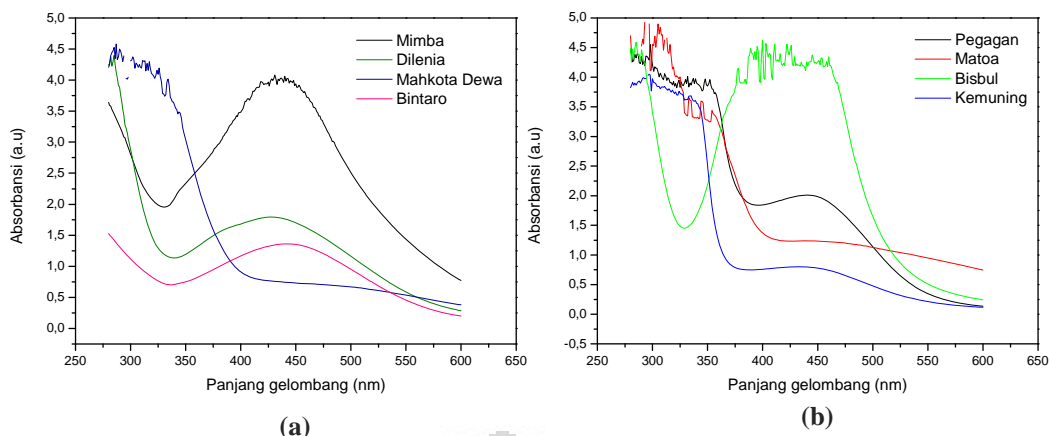
pekat. Kemudian warna tersebut semakin pekat seiring dengan bertambahnya waktu. Sementara warna larutan pada reaksi antara AgNO_3 dengan air rebusan bisbul segar cenderung cokelat muda hingga cokelat. Campuran AgNO_3 dengan air rebusan Bintaro, Dilenia, Pegagan, dan Kemuning baru memperlihatkan adanya perubahan warna larutan setelah 1 jam. Pada penggunaan air ebusan daun Mahkota dewa, larutan mengalami penggumpalan dan pengendapan setelah 24 jam (Gambar 3.1.1d). Sementara nilai pH larutan selama proses reaksi yang terjadi berada pada pH 4—5.



Gambar 3.1.1. Larutan hasil pencampuran air rebusan dan AgNO_3 dari waktu ke waktu.

3.2. Spektrum UV-Vis Nanopartikel Perak

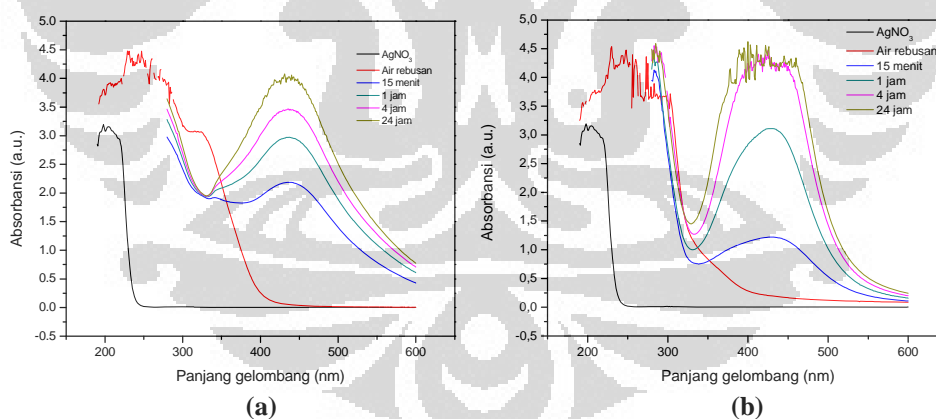
Hasil karakterisasi spektrum UV-Vis dari kedelapan jenis tumbuhan menunjukkan bahwa penggunaan air rebusan daun segar Mimba, Dilenia, Bintaro, Kemuning, Bisbul dan Pegagan membentuk puncak absorbansi dikisaran 400—500 nm (Gambar 3.2.1a & 3.2.1b). Sementara itu, penggunaan air rebusan daun segar Mahkota Dewa dan Matoa tidak menunjukkan adanya puncak absorbansi dikisaran panjang gelombang tersebut. Karakterisasi tersebut dilakukan saat 24 jam setelah pencampuran AgNO_3 dan air rebusan dari daun segar pada perbandingan 45:5 (v:v). Berdasarkan karakter spektrum UV-Vis dapat diperoleh nilai absorbansi, λ_{maks} , dan FWHM (*Full width at half maximum*).



Gambar 3.2.1 Hasil spektrofotometer dari kedelapan tumbuhan yang digunakan untuk biosintesis nanopartikel perak.

3.3. Pengaruh waktu terhadap spektrum UV-Vis

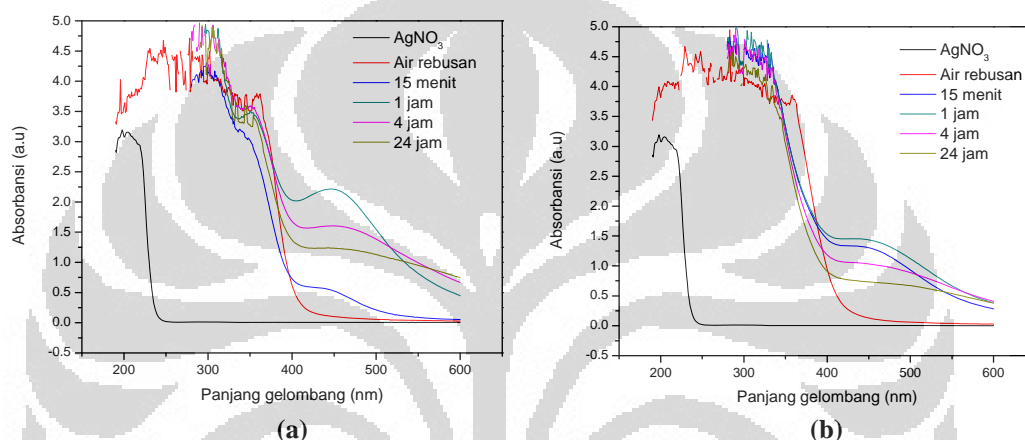
Karakterisasi spektrum UV-Vis hasil biosintesis dilakukan seiring orde waktu saat 15 menit, 1 jam, 4 jam, dan 24 jam setelah pencampuran. Pada penggunaan air rebusan daun Mimba diperoleh nilai λ_{maks} dikisaran 430—440 nm. Sementara itu, nilai absorbansi cenderung semakin meningkat mulai dari 15 menit hingga 24 jam setelah pencampuran (Gambar 3.3.1a.).



Gambar 3.3.1. Hasil spektrofotometer UV-Vis $AgNO_3$ +Air rebusan daun Mimba (a) dan Bisbul (b) pada rasio 45:5 (v:v).

Penggunaan air rebusan daun Bisbul untuk biosintesis, juga menghasilkan spektrum yang hampir sama. Kurva yang dihasilkan cenderung lebih simetris daripada hasil spektrum UV-Vis Mimba (Gambar 3.3.1b). Hasil pengukuran spektrum λ_{maks} pada penggunaan air rebusan daun Bisbul menunjukkan adanya

puncak dikisaran λ_{maks} 430 hingga 450 nm. Sementara itu, pada penggunaan air rebusan daun Matoa untuk biosintesis, terdeteksi adanya spektrum λ_{maks} saat 1 jam, yaitu dikisaran 450 nm. Setelah 1 jam, puncak tersebut semakin melebar dan nilai absorbansi semakin menurun (Gambar 3.3.2a). Penggunaan air rebusan Mahkota dewa untuk biosintesis, dari hasil pengukuran saat 15 menit hingga 24 jam tidak terdeteksi adanya puncak dikisaran λ_{maks} 400—500 nm, meskipun terdapat kenaikan nilai absorbansi sejak 15 menit. Namun setelah 1 jam, nilai absorbansi menurun (Gambar 3.3.2b).



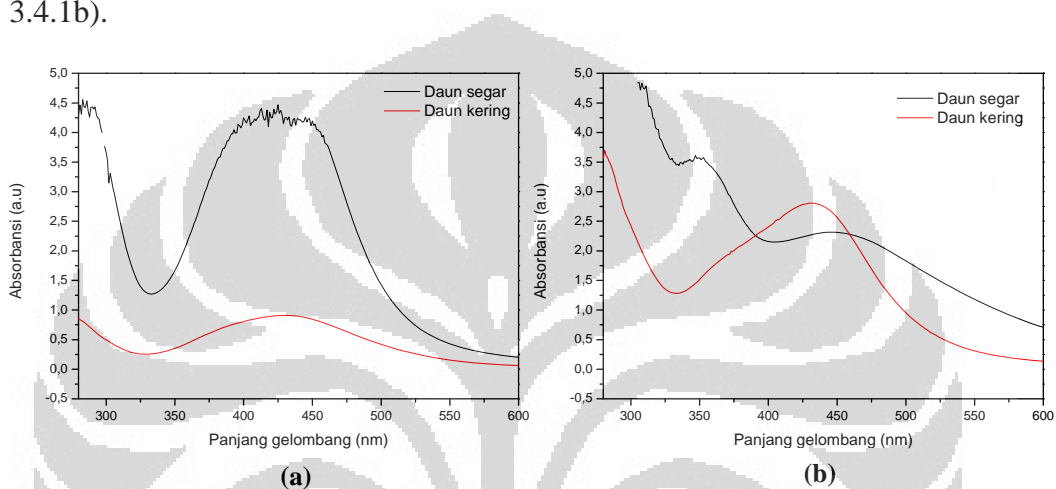
Gambar 3.3.2. Hasil spektrofotometer UV-Vis AgNO₃+Air rebusan daun Matoa (a) dan Mahkota Dewa (b) pada rasio 45:5 (v:v).

Pada jenis tumbuhan lain, yaitu Pegagan, Bintaro, Dilenia, dan Kemuning juga terbentuk puncak dikisaran 420—450 nm saat 24 jam dan nilai absorbansi (Lampiran 2). Bintaro dan Matoa membutuhkan waktu hingga 1 jam hingga terbentuk puncak λ_{maks} , sedangkan Dilenia dan Pegagan membutuhkan waktu lebih dari 4 jam, dan yang terakhir Kemuning membutuhkan waktu hingga 24 jam. Namun demikian pada Matoa setelah 4 jam, puncak spektrum UV- Vis tidak lagi terdeteksi.

3.4. Pengaruh Penggunaan Daun Segar dan Daun Kering

Penggunaan daun dalam kondisi segar maupun kering sebagai parameter proses menunjukkan terbentuknya spektrum UV Vis dikisaran λ_{maks}

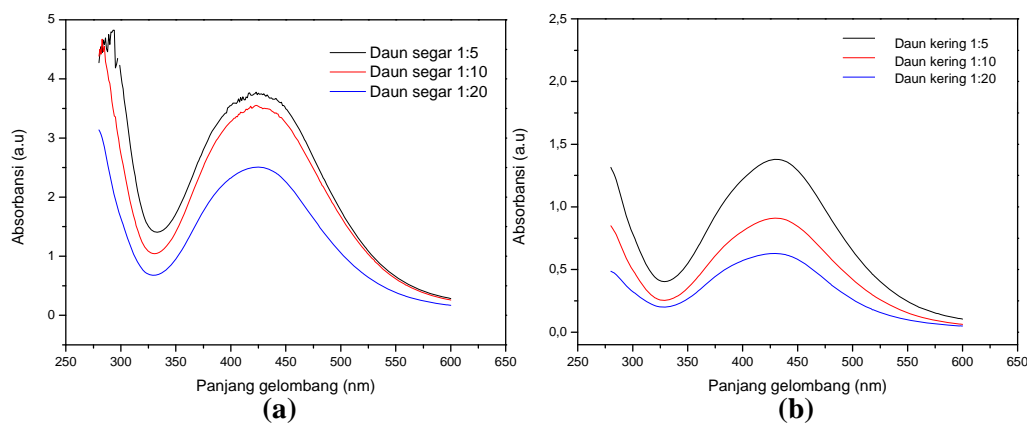
380—500 nm. Sementara nilai absorbansi cenderung lebih tinggi pada penggunaan air rebusan daun segar Bisbul daripada dengan menggunakan daun kering (Gambar 3.4.1a). Selain itu, nilai FWHM menggunakan daun Bisbul kering lebih kecil dari pada penggunaan air rebusan daun Bisbul segar. Hal yang hampir serupa juga diperlihatkan pada penggunaan jenis tumbuhan lainnya. Pada penggunaan air rebusan daun Matoa kering, puncak spektrum absorpsi juga terlihat lebih jelas dibandingkan penggunaan air rebusan daun segar (Gambar 3.4.1b).



Gambar 3.4.1. Hasil spektrum UV-Vis hasil biosintesis menggunakan air rebusan daun segar+AgNO₃ dan air rebusan daun kering+AgNO₃ Bisbul (a) dan Matoa (b) pada rasio 1:10 (v:v) saat 4 jam.

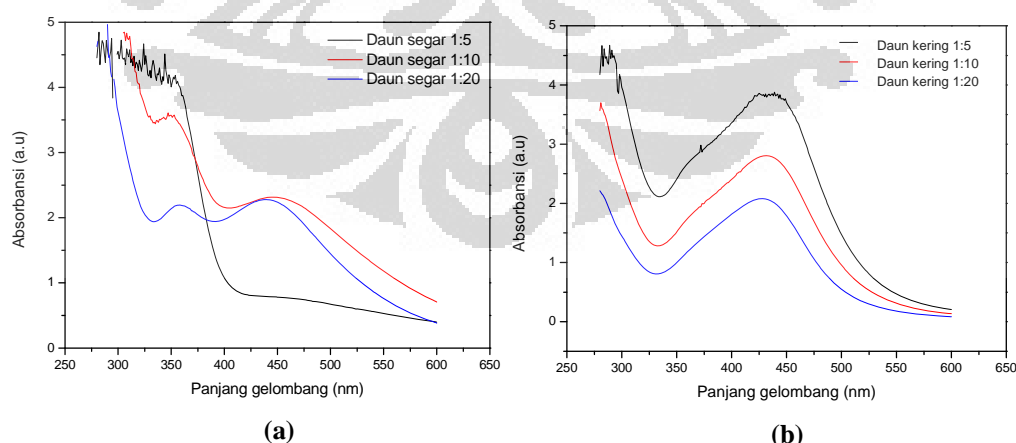
3.5. Pengaruh Rasio Prekursor Perak dengan Air Rebusan

Tujuh tumbuhan yang diujikan sebelumnya, yaitu Mimba, Bisbul, Bintaro, Dilenia, Pegagan, Kemuning, dan Matoa memperlihatkan kemampuan menyintesis nanopartikel perak. Selanjutnya, dilakukan variasi proses perlakuan sebelum biosintesis dengan menggunakan daun dalam kondisi segar maupun kering, yaitu beberapa variasi rasio volume prekursor AgNO₃ dengan air rebusan (v:v) 1:5; 1:10; dan 1:20. Hasil karakterisasi penggunaan air rebusan daun Bisbul segar untuk biosintesis NPP diperoleh hasil seperti pada Gambar 3.5.1a, sedangkan hasil dari penggunaan air rebusan Bisbul kering pada Gambar 3.5.1b. Pengukuran tersebut dilakukan 4 jam setelah pencampuran.



Gambar 3.5.1. Hasil biosintesis dengan air rebusan daun Bisbul segar + AgNO_3 (a) dan air rebusan daun Bisbul kering + AgNO_3 (b) pada rasio 1:5; 1:10; dan 1:20 saat 4 jam.

Hasil biosintesis yang diperoleh dengan menggunakan daun Bisbul segar berkebalikan dengan Matoa. Pada penggunaan air rebusan daun segar Matoa pada rasio 1:5 (v:v) tidak diperoleh puncak yang nyata dari hasil spektroskopinya, karena puncaknya sangat lebar dan cenderung mendatar. Sementara pada rasio 1:10 dan 1:20 puncak absorbansi semakin terlihat (Gambar 3.5.2a). Pada rasio 1:20 laju reaksi juga cenderung lebih cepat dibandingkan pada rasio yang lainnya berdasarkan nilai absorbansinya. Sementara penggunaan air rebusan Matoa dari daun kering puncak absorpsi spektrum λ_{maks} terbentuk di semua rasio perbandingan dan semakin tinggi nilai absorbansinya dari rasio volume 1:20, 1:10 dan 1:5. Hal tersebut diperlihatkan oleh grafik pada Gambar 3.5.2b. Puncak absorbansi dikisaran λ 400—500 nm.



Gambar 3.5.2. Hasil biosintesis dengan air rebusan daun Matoa segar + AgNO_3 (a) dan air rebusan daun Matoa kering + AgNO_3 (b) pada rasio 1:5; 1:10; dan 1:20 saat 4 jam.

Secara keseluruhan--pada semua jenis tumbuhan-- , hasil yang diperoleh menunjukkan pada rasio 1:5 nilai absorbansi cenderung lebih tinggi, kemudian semakin menurun pada rasio 1:20. Hal yang sama juga diperlihatkan pada penggunaan air rebusan Bintaro dan Kemuning baik segar maupun kering, serta Bisbul, Matoa dan Mimba kering. Sementara itu, penggunaan daun Dillenia, Pegagan, dan Matoa segar menunjukkan hasil yang sebaliknya, nilai absorbansi semakin menurun pada rasio 1:5.

3.6. Deteksi Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan

Hasil deteksi kelompok senyawa metabolit sekunder dari kedelapan jenis tumbuhan menunjukkan hampir semua kelompok senyawa metabolit sekunder yang diujikan dimiliki tumbuhan (Tabel 3.6.1). Tumbuhan yang mengandung kelompok alkaloid membentuk endapan berwarna putih saat direaksikan dengan pereaksi Meyer dan endapan merah-cokelat dengan pereaksi Bouchardat. Sementara pada pengujian kelompok flavonoid terbentuk warna jingga hingga merah jika positif mengandung flavanoid. Untuk pengujian fenolik terbentuk warna biru hingga ungu dan terbentuk busa saat pengujian untuk mendeteksi keberadaan senyawa kelompok saponin. Hal tersebut bersesuaian dengan Habourne (1984) dan Depkes (1995).

Tabel 3.6.1. Hasil deteksi kelompok senyawa metabolit sekunder dari setiap jenis tumbuhan dibandingkan dengan kemampuannya membentuk NPP.

No	Jenis Tanaman	Deteksi kelompok senyawa metabolit sekunder								Kemampuan Membentuk NPP
		Alkaloid	Flavanoid		Terpenoid	Fenol		Saponin		
			Rebusan daun segar	Rebusan daun kering		Rebusan daun segar	Rebusan daun kering	Rebusan daun segar	Rebusan daun kering	
1	Bisbul	-	+	-	+	+	+	+	+	+
2	Mimba	+	+	+	+	-	-	+	+	+
3	Pegagan	-	+	+	+	+	+	+	+	+
4	Dilenia	-	+	+	+	+	+	+	+	+
5	Bintaro	+	-	-	+	-	-	-	-	+
6	Kemuning	+	+	-	+	-	-	+	-	+
7	Matoa	-	+	+	+	+	+	+	+	+
8	Mahkota dewa	+	+	+	-	+	+	+	+	-

4. PEMBAHASAN

Terjadinya reaksi setelah pencampuran ditandai oleh adanya perubahan warna larutan dari bening menjadi kuning hingga kecokelatan setelah beberapa waktu. Hal yang sama diperoleh Shankar *dkk.* 2004, yang menggunakan Mimba, kemudian memperoleh warna larutan kuning hingga kecokelatan setelah terjadinya reaksi. Sementara warna larutan yang terbentuk dari hasil reaksi setiap jenis tumbuhan tidaklah sama. Hal tersebut diduga terkait dengan keberadaan kandungan senyawa tertentu pada tumbuhan. Semakin tinggi kandungannya, maka warna yang dihasilkan akan cenderung semakin pekat. Selain perubahan warna, hasil spektrum absorpsi UV-Vis menjadi salah satu karakter yang dapat digunakan untuk mengkonfirmasi telah terbentuknya NPP. Berdasarkan ketujuh jenis tumbuhan yang digunakan, yaitu Mimba, Bisbul, Bintaro, Dilenia, Matoa, Kemuning dan Pegagan, terbentuk puncak absorpsi pada kisaran λ_{maks} 400--450 nm. Hal tersebut bersesuaian dengan nilai *surface plasmon resonance* (SPR) dari nanopartikel perak yang berada pada kisaran λ_{maks} 400--500 nm (Shankar *dkk.* 2004; Solomon *dkk.* 2007) dan dapat dijadikan indikasi bahwa NPP telah terbentuk.

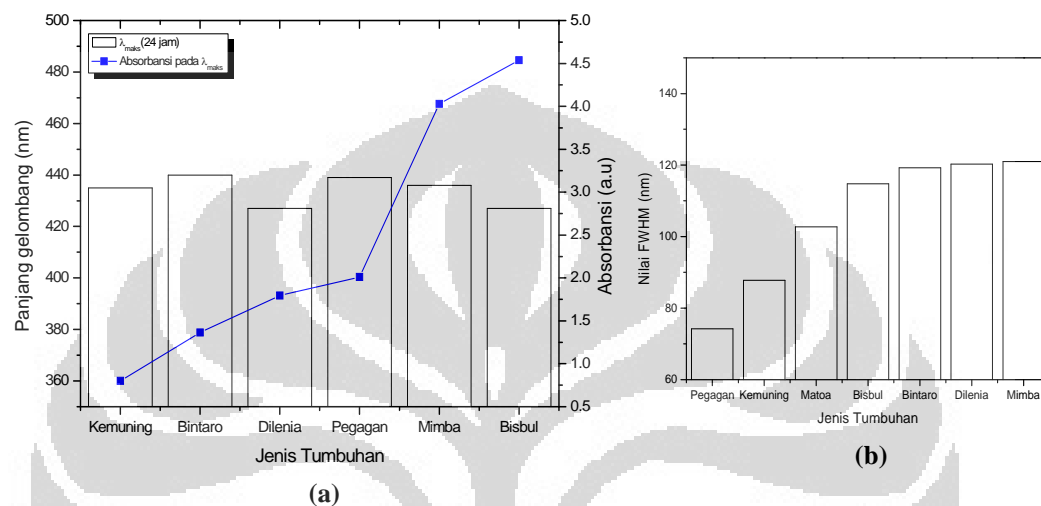
Proses biosintesis dengan menggunakan air rebusan daun Mahkota dewa terjadi perubahan warna larutan setelah pencampuran. Perubahan warna larutan yang teramati secara visual menunjukkan terjadinya reaksi. Namun demikian, hasil spektrum UV-Vis-nya tidak menunjukkan terbentuknya puncak dikisaran λ_{maks} 400—450 nm, meskipun nilai absorpsi larutan semakin meningkat seiring waktu. Menurut Solomon *dkk.* (2007) perubahan warna menunjukkan spektrum warna dari NPP. Akan tetapi, dalam penelitian ini, perubahan warna larutan tidak dapat dijadikan sebagai indikasi mutlak bahwa NPP telah terbentuk. Konfirmasi terbentuk atau tidaknya NPP berdasarkan hasil spektrum UV-Vis larutan hasil reaksi. Pada penelitian ini, air rebusan daun Mahkota dewa dianggap belum optimal untuk biosintesis NPP. Endapan yang terbentuk setelah 24 jam diduga

akibat dari proses pertumbuhan dari NPP tidak stabil. Hal tersebut menyebabkan terjadinya agregasi ataupun aglomerasi antar nanopartikel sehingga tidak terdispersi dengan baik dalam larutan (Nagarajan 2008).

Hasil dari pengujian tanaman yang digunakan secara umum bersesuaian dengan hasil yang diperoleh Shankar *dkk.* (2004) yang sebelumnya telah berhasil menggunakan air rebusan daun Mimba untuk biosintesis nanopartikel perak dengan diperoleh λ_{maks} dikisaran 450 nm. Sementara itu, terdapat 2 jenis tumbuhan yang memiliki kesamaan genus yang digunakan pada penelitian ini dengan penelitian sebelumnya, yaitu *Diospyros blancoi* (bisbul) dengan *Diospyros kaki* (kesemek) yang telah di gunakan Song *dkk.* (2009) dan *Murraya paniculata* (kemuning) dengan *Murraya koenigii* (*Curry tree*) oleh Philip *dkk.* (2011). Hasil yang diperoleh juga menunjukkan kedua jenis tumbuhan mampu menyintesis NPP dengan diperoleh puncak dikisaran 410—430 nm. Sebelumnya pada penelitian yang telah dilakukan oleh Handayani *dkk.* 2010, air rebusan Kemuning yang digunakan untuk biosintesis tidak menunjukkan adanya puncak pada kisaran λ 400—500 nm. Hal tersebut kemungkinan menunjukkan adanya waktu-waktu optimum untuk menggunakan tanaman dalam biosintesis NPP. Waktu pengambilan tanaman yang berbeda memungkinkan adanya perbedaan kandungan baik jumlah dan jenis dari senyawa yang terdapat pada tanaman. Hal tersebut menunjukkan setiap jenis tumbuhan memiliki kemampuan dan karakteristik yang berbeda-beda dalam reaksi biosintesisnya.

Gambar 4.1. menunjukkan posisi λ_{maks} dan nilai absorbansi dari ketujuh tanaman saat 24 jam. Nilai absorbansi tertinggi saat 24 jam dimiliki oleh Bisbul, kemudian berturut-turut Mimba, Pegagan, Dilenia, Bintaro, dan Kemuning. Nilai absorbansi menunjukkan kecenderungan jumlah NPP yang dihasilkan. Kenaikan nilai absorbansi dari waktu ke waktu dapat menunjukkan kecepatan reaksi yang terjadi. Sementara nilai λ_{maks} dapat menunjukkan kecenderungan ukuran NPP yang dihasilkan. Selain nilai absorbansi dan λ_{maks} , dari grafik Gaussian hasil spektrofotometer UV-Vis juga dapat diperoleh nilai FWHM (*full width at half maximum*) (Gambar 4.2). Nilai-nilai tersebut diperoleh dari hasil *fitting* kurva dengan menggunakan software Origin Pro 8. Nilai FWHM menunjukkan nilai

dari lebar setengah puncak yang terbentuk. Bersama dengan hasil spektrum panjang gelombang, keduanya dapat menunjukkan kecenderungan distribusi dan ukuran nanopartikel yang dihasilkan. Jika nilai FWHM yang rendah juga dapat menunjukkan, maka distribusi dan ukuran nanopartikel yang dihasilkan cenderung tersebar (monodisperse) dan seragam (Solomon *dkk.* 2007).



Gambar 4.1 Nilai λ_{maks} dan absorbansi 6 jenis tumbuhan saat 24 jam (a) dan Nilai FWHM dari hasil spektrum UV-Vis.

Hasil spektrum dari seluruh jenis tumbuhan berada pada kisaran λ_{maks} 420—438 nm dan nilai FWHM 100—140 nm. Berdasarkan Solomon *dkk.* (2007), pada kisaran nilai tersebut NPP yang dihasilkan berukuran 50—80 nm. Ukuran NPP akan semakin kecil seiring dengan semakin kecilnya nilai λ_{maks} dan FWHM. Sementara itu, nilai absorbansi cenderung menunjukkan jumlah dari nanopartikel dan kecepatan reaksi seiring dengan pertambahan waktu. Semakin tinggi nilai absorbansi, maka semakin banyak jumlah NPP yang terbentuk. Hasil penelitian memperlihatkan, beberapa jenis tumbuhan memiliki laju reaksi yang cenderung cepat seperti Bisbul dan Mimba, sementara jenis lainnya seperti Kemuning, Pegagan, dan Dilenia memiliki laju reaksi yang cenderung lambat.

Berdasarkan hasil spektrum UV-Vis terdapat kecenderungan penggunaan air rebusan daun Bisbul memiliki potensi yang cukup baik untuk biosintesis NPP, berdasarkan konsistensinya dari waktu ke waktu serta bentuk kurva yang lebih

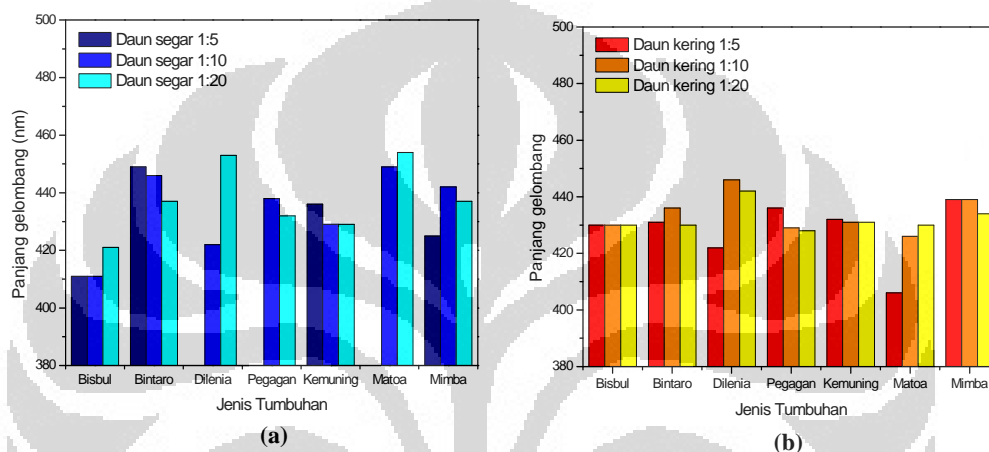
simetris. Namun demikian, untuk dapat mengetahui ukuran, dispersi, dan bentuk NPP dengan lebih akurat perlu dilakukan karakterisasi lebih lanjut menggunakan TEM (Transmission Electron Microscope).

Penggunaan daun dalam kondisi segar maupun kering sebagai parameter proses, bertujuan untuk mengetahui apakah dengan berkurangnya kadar air pada daun akan berpengaruh terhadap proses reaksi. Selain itu, dengan menggunakan daun kering, bahan akan lebih mudah disimpan dan cenderung tahan lebih lama daripada daun segar. Namun demikian, proses pengeringan rentan untuk merusak senyawa kimia tertentu dan hilangnya senyawa kimia yang bersifat volatil yang terdapat pada daun. Senyawa yang bersifat volatil umumnya berasal dari kelompok Terpen dan senyawa-senyawa yang memiliki titik didih di atas 50° C. Tripathy *dkk.* (2010) melakukan pengeringan terhadap daun Mimba sebagai salah satu parameter prosesnya, dari hasil yang diperoleh menunjukkan penggunaan daun yang telah dikeringkan tidak mampu menghasilkan NPP. Hal tersebut diduga karena proses pengeringan menyebabkan senyawa yang berperan sebagai pereduksi hilang atau rusak.

Hasil spektrum UV-Vis dari berupa nilai λ_{maks} pada penggunaan air rebusan daun kering, memperlihatkan adanya konsistensi dari waktu ke waktu dan seiring dengan kenaikan rasio volume air rebusan dan prekursor perak (Gambar 4.2). Tidak seperti pada penggunaan air rebusan dari daun segar, penggunaan air rebusan daun kering menghasilkan nilai λ_{maks} yang lebih kecil. Hal tersebut dapat menunjukkan kecenderungan ukuran nanopartikel yang dihasilkan juga akan semakin kecil.

Tripathy *dkk.* (2010) dan Philip *dkk.* (2011), sebelumnya juga melakukan perbandingan konsentrasi dan rasio dari AgNO₃ dengan air rebusan daun untuk menemukan rasio yang paling optimum untuk proses biosintesis. Berdasarkan hasil penelitian keduanya, ukuran dan bentuk nanopartikel yang dihasilkan melalui proses biosintesis sangatlah dipengaruhi oleh parameter tersebut. Berdasarkan Solomon *dkk.* (2007), pada λ_{maks} dikisaran 420 nm dan FWHM 100—110 nm NPP yang diperoleh berukuran 35—50 nm, sementara pada λ_{maks} di kisaran 438 nm dan FWHM 140—150 nm berukuran 60—80 nm. Pada penelitian

ini λ_{maks} yang diperoleh dari hasil biosintesis ketujuh jenis tumbuhan berada di kisaran 420—450 nm dan nilai FWHM dikisaran 70—200 nm. Dengan demikian, diperkirakan ukuran NPP yang dihasilkan pada penelitian ini berdasarkan pada hasil spektroskopinya memiliki ukuran dikisaran 50—80 nm. Hasil yang diperoleh juga menunjukkan penggunaan daun dalam kondisi segar dan kering, serta rasio prekursor AgNO_3 dengan air rebusan dalam proses biosintesis dapat memengaruhi ukuran dan jumlah dari NPP yang dihasilkan.



Gambar 4.2. Perbandingan panjang gelombang dari ketujuh jenis tumbuhan dari pada perbandingan air rebusan daun segar serta daun kering dengan AgNO_3 pada rasio 1:5; 1:10; dan 1:20 saat 24 jam.

Biosintesis nanopartikel perak pada prinsipnya ialah memanfaatkan tumbuhan sebagai agen pereduksi. Nanopartikel (Ag^0) terbentuk melalui reaksi reduksi oksidasi (redoks) dari ion Ag^+ yang terdapat pada larutan maupun ion Ag^+ yang terkandung dalam tumbuhan dengan senyawa tertentu, seperti enzim dan reduktan yang berasal dari bagian tumbuhan (Kumar & Yadav 2009). Saat reduksi, terjadi penambahan elektron sehingga muatan dari ion Ag^+ menjadi tidak bermuatan (Ag^0) (Timberlake 2010).

Senyawa bioaktif yang terkandung pada tumbuhan, seperti senyawa-senyawa antioksidan dan senyawa metabolit sekunder tertentu, seperti kelompok terpenoid dan flavanoid diduga berperan dalam proses reduksi ion logam. Namun demikian, beberapa riset sebelumnya menduga senyawa terpenoid memiliki peranan dalam proses biosintesis nanopartikel perak. Daun Mahkota dewa yang

digunakan tidak terdeteksi adanya senyawa tepenoid dan tidak mampu membentuk NPP. Namun demikian, hasil tersebut belum cukup kuat untuk dapat mendukung hipotesis dan teori yang telah ada, karenanya perlu dilakukan studi lebih lanjut.

Peneliti-peneliti sebelumnya seperti Shankar *dkk.* (2004) menyakini bahwa senyawa seperti gula-gula pereduksi dan atau senyawa terpenoid yang terdapat di air rebusan daun *Azadiracta indica* A. Juss (Mimba) berperan dalam reduksi ion logam. Sementara senyawa seperti flavanoid dan terpenoid lainnya berperan sebagai molekul penstabil permukaan nanopartikel. Li *dkk.* 2007, berpendapat pada *Capsicum annuum* L. berdasarkan hasil karakterisasi menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) jenis protein yang memiliki gugus amina berperan dalam proses reduksi. Li *dkk.* (2007) juga mengemukakan bagaimana mekanisme reduksi yang dikenal sebagai *recognition-reduction-limited nucleation* (Lampiran 3A). Mekanisme tersebut menyatakan bahwa ion Ag^+ akan dikenali oleh protein tertentu pada tumbuhan dan terjerat dipermukaannya. Selanjutnya, terdapat kemungkinan protein tersebut akan mereduksi ion perak, menghasilkan nukleasi perak. Protein maupu biomolekul lain yang terdapat pada tumbuhan mendukung pertumbuhan perak dan menstabilkan nanopartikel yang dihasilkan.

Sementara itu, Jha & Prasad (2010) yang menggunakan ekstrak etanol dari tumbuhan *Cycas*, menyatakan bahwa proses reduksi terjadi karena adanya senyawa-senyawa fitokimia seperti polifenol, glutathion, metalotionin, dan askorbat yang berperan saat tumbuhan melakukan detoksifikasi logam dari lingkungannya. Senyawa-senyawa kimia tersebut diduga berperan sebagai donor elektron sehingga muatan pada ion logam menjadi berkurang akibat tereduksi. Beberapa peneliti telah berhasil menggunakan menggunakan jenis senyawa metabolit tertentu pada tumbuhan, seperti *gerraniol* dari *Pelargonium graveolens* (Geranium) (Safaepour *dkk.* 2009) dan *phyllatin* dari *Phyllanthus amarus* (Meniran) (Kasthuri *dkk.* 2009) untuk biosintesis NPP. Namun demikian, hingga saat ini bagaimana proses reduksi dan mekanisme biosintesis yang terjadi masih merupakan hipotesis yang masih perlu dipelajari dan dibuktikan lebih lanjut.

5. KESIMPULAN

Tujuh jenis tumbuhan, yaitu Kemuning, Bintaro, Dilenia, Pegagan, Mimba, Bisbul, dan Matoa dapat digunakan untuk biosintesis nanopartikel perak. Spektrum UV-Vis dari hasil biosintesis menunjukkan adanya puncak dikisaran panjang gelombang 425—450 nm yang merupakan nilai SPR dari NPP. Pada kisaran panjang gelombang tersebut NPP yang dihasilkan memiliki kisaran ukuran <100 nm. Perubahan warna larutan tidak selalu mengindikasikan terbentuknya NPP, seperti yang terjadi pada Mahkota dewa. Kecepatan dan jumlah NPP yang dihasilkan berdasarkan nilai absorbansinya dari yang terendah hingga tertinggi, yaitu Kemuning, Bintaro, Dilenia, Pegagan, Mimba, dan Bisbul. Sementara itu, perbandingan volume AgNO₃ dan air rebusan, serta penggunaan daun dalam kondisi segar dan dalam kondisi kering memengaruhi kecepatan, ukuran, dan kestabilan. Hal tersebut berdasarkan nilai absorbansi, λ_{maks} yang cenderung konstan, dan nilai FWHM yang rendah dari waktu ke waktu. Penggunaan air rebusan daun kering Bisbul cenderung lebih baik terkait dengan tingkat kestabilan dan kecenderungan keseragaman ukuran nanopartikel yang dihasilkan.

Senyawa dengan karakter seperti apa yang sesungguhnya berperan dan mekanisme yang terjadi masih menjadi pertanyaan. Oleh karena itu, masih terbuka peluang untuk mengetahui dan memahami mekanisme reaksi yang sebenarnya terjadi saat proses biosintesis karena selain sebagai agen pereduksi air rebusan, ekstrak, ataupun biomassa dari tumbuhan dapat berperan sebagai agen penstabil dari nanopartikel perak yang dihasilkan. Untuk selanjutnya, jenis tumbuhan yang dapat digunakan, serta jenis dan kadar senyawa pada tumbuhan yang paling optimum untuk biosintesis menarik untuk terus digali. Hal tersebut akan membuka peluang bioprospek tumbuhan selain untuk konsumsi dan obat-obatan, juga dapat digunakan untuk pengembangan di bidang nanosains dan nanoteknologi.

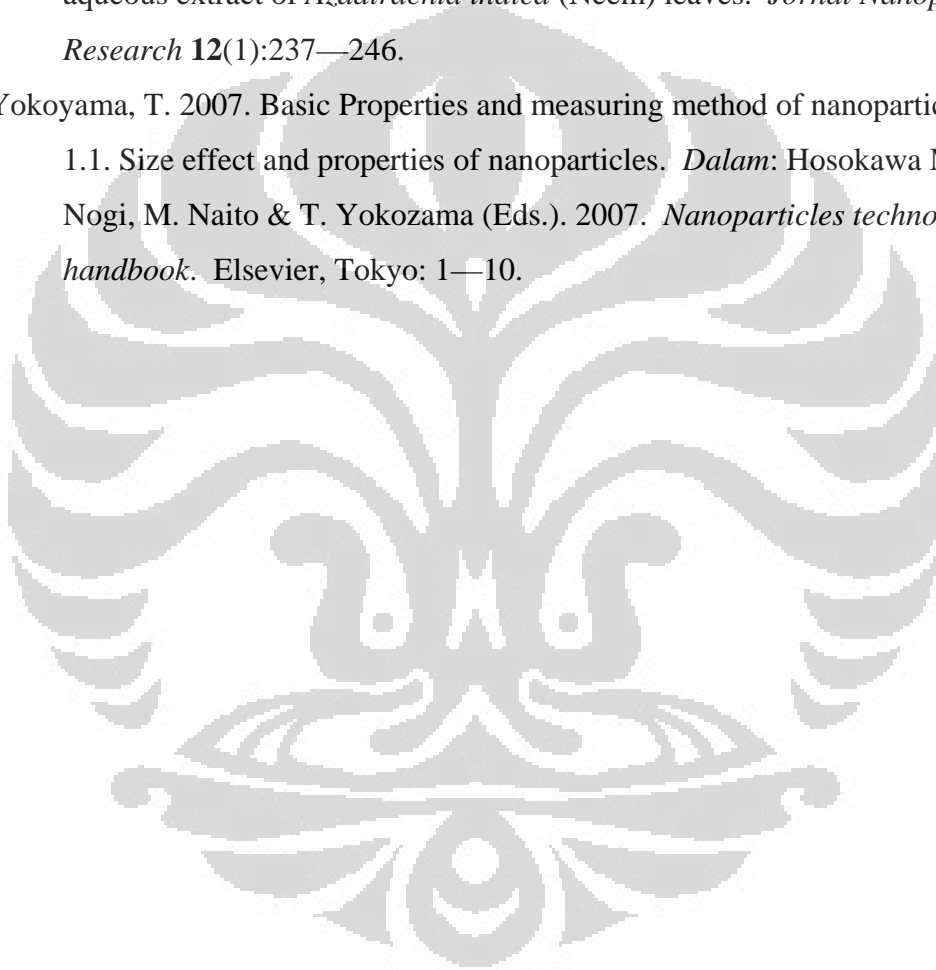
6. DAFTAR PUSTAKA

- Chandran, S.P., M. Chaundhary, R. Pasricha, A. Ahmad & M. Sastry. 2006. Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using *Aloe vera* plant extract. *Biotechnology Progress* **22**: 577—583.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia (=Depkes). 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi ke-4. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta: xxv + 1031 hlm.
- Dubey, M., S. Bhadauria & B.S. Kushwah. 2009. Green synthesis of nanosilver particles from extract of *Eucalyptus hybrid* (Safeda) leaf. *Journal of Nanomaterials and Biostructure* **4**(3): 537—543.
- Gardea-Torresdey J. L., E. Gomez, J. R. Peralta-Videa, J.G. Parsons, H. Troiani & M. Jose-Yacaman. 2003. Alfalfa Sprouts: A Natural Source for the Synthesis of Silver Nanoparticles. *Langmuir*: 1357—1361.
- Handayani, W., Bakir, C. Imawan & S. Purbaningsih. 2010. Potensi ekstrak beberapa jenis tumbuhan sebagai agen pereduksi untuk biosintesis nanopartikel perak. *Prosiding Seminar Nasional Biologi 24-25 September 2010*, Fakultas Biologi UGM, Yogyakarta: 558—567.
- Harbourne, J.B. 1984. Metode fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Ed. Ke-2. Terj. dari *Phytochemical Methods* oleh Padmawinata, K. & I. Soediro. Penerbit ITB, Bandung: 10a + 364 hlm.
- Jha, A.K. & K. Prasad. 2010. Green synthesis of silver nanoparticles using *Cycas* leaf. *International Journal of Green Nanotechnology: Physics and Chemistry* **1**: 110-117.
- Jha, A.K., K. Prasad, L. Prasad & A.R. Kulkarni. 2009. Plant system: Nature's nanofactory. *Colloids and Surface B: Biointerfaces* **73**: 219—223.
- Kasthuri, J., K. Kathiravan, & N. Rajendiran. 2009. Phyllanthin-assisted biosynthesis of silver and gold nanoparticles: a novel biological approach. *Journal Nanoparticle Research* **11**(5):1075—1085.

- Kesharwani, J., Ki Young Yoon, Jungho Hwang & M. Rai. 2009. Phytofabrication of silver nanoparticles by leaf extract of *Datura metel*: Hypothetical mechanism involved in synthesis. *Journal of Bionanoscience* **3**: 1—6.
- Kumar, V. & S. K. Yadav. 2009. Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. *Journal Chemical Technology and Biotechnology* **84**:151—157.
- Kumar, V., Yadav, S.C. & Yadav, S.K. 2010. *Syzygium cumini* leaf and seed extract mediated biosynthesis of silver nanoparticles and their characterization. *Journal Chemistry Technology and Biotechnology*:1--9.
- Leela, A. & M. Vivekanandan. 2008. Tapping the unexploited plant resources for the synthesis of silver nanoparticles. *African Journal of Biotechnology* **7**(17): 3162—3165.
- Li, Shikuo, Yuhua Shen, Anjian Xie, Xuerong Yu, Lingguang Qiu, Li Zhang & Qingfeng Zhang. 2007. Green synthesis of silver nanoparticles using *Capsicum annuum* L. extract. *Green Chemistry* **9**: 852—858.
- Mohanpuria, P., N.K. Rana & S.K. Yadav. 2008. Biosynthesis of nanoparticles: technological concept and future application. *Journal Nanoparticles Research* **10**: 507—517.
- Mukerjee, P., A. Ahmad, D. Mandal, S. Senapati, S.R. SAnkar, M.I. Khan, R. Parischa, P.V. Ajaykumar, M. Alam, R. Kumar & M. Sastry. 2001. Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their immobilization in the mycelia matrix: A novel biological approach to nanoparticle synthesis. *Nano Letter* **1**: 515—519.
- Nagarajan, R. 2008. Nanoparticles: Building blocks for nanotechnology. *Dalam*: Nagarajan, R. & T. A. Hatton (Eds.). 2008. *Nanoparticles: synthesis, stabilization, passivation, and functionalization*. American Chemical Society, Washington: 1—14.

- Parsons, J.G., J.R. Peralta-Videa & J.L. Gardea-Torresdey. 2007. Use of plant in biotechnology: Synthesis of metal nanoparticles by inactive plant tissues, plant extract, and living plants. *Dalam: Sarkar, D., R, Datta & R. Hannigan (Eds).* 2007. Developmental in environmental sciences Volume 5: Concepts and application in environmental geochemistry. Elsevier, Oxford: 463—481.
- Philip, D., C. Unni, S.S. Aromal, & V.K. Vidhu. 2011. *Murraya keonigii* leaf-assisted rapid green synthesis of silver and gold nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **78**: 899—904.
- Safaepour, M., A.R. Shahverdi, H.R. Shaverdi, Khorramizadeh, M.R. & A.R. Gohari. 2009. Green Synthesis of Small Silver Nanoparticles Using Geraniol and Its Cytotoxicity against Fibrosarcoma-Wehi 164. *Avicenna Journal Medicine and Biotechnology* **1(2)**: 111—115.
- Shankar, S.S., A. Rai, A., Ahmad & M. Sastry. 2004. Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *Journal of Colloid and Interface Science* **275(4)**: 496—502.
- Solomon, S.D., M. Bahadory, A.V. Jeyarajasingam, S.A. Rutkowsky, C. Boritz & L. Mulfinger. 2007. Synthesis and study of silver nanoparticles. *Journal of Chemical Education* **84(2)**: 322—325.
- Song, J.Y. & B.S. Kim, 2009. Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. *Bioprocess Biosyst. Eng.* **32**: 72—89.
- Theodore, L. & R.G. Kunz. 2005. *Nanotechnology: Environmental implication and solution*. Joh Wiley & Sons, Inc., New Jersey: xvi + 378 hlm.
- Timberlake, K.C. 2010. *General, organic, and biological chemistry: Structure of life*. 3rd ed. Prentice Hall, New York: xxx+876+C1—C3+I1—I25 hlm.

- Tolaymat, T.M, A. El Badawy, A. Genaidy & K.G. Scheckel. 2010. An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in syntheses and applications: A systematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers. *Sciences of the Total Environment* **408**: 999—1006.
- Tripathy, A., A.M. Raichur, N.Chandrasekaran, T.C. Prathna & A. Mukhrjee. 2010. Process variables in biomimetic synthesis of silver nanoparticles by aqueous extract of *Azadirachta indica* (Neem) leaves. *Jornal Nanoparticles Research* **12**(1):237—246.
- Yokoyama, T. 2007. Basic Properties and measuring method of nanoparticles: 1.1. Size effect and properties of nanoparticles. *Dalam*: Hosokawa M., K. Nogi, M. Naito & T. Yokozama (Eds.). 2007. *Nanoparticles technology handbook*. Elsevier, Tokyo: 1—10.



Makalah II

POTENSI APLIKASI NANOPARTIKEL PERAK HASIL BIOSINTESIS SEBAGAI INDIKATOR KOLORIMETRI LOGAM BERAT

Application of Silver Nanoparticles from Biosynthesis Methode for Heavy Metals Colorimetric Detection

Windri Handayani

wind_hany@yahoo.com

ABSTRACT

Heavy metal pollution is one from many environmental problems. Exposure to these toxic heavy metal arises from the effects of bioaccumulation through out the food chain and its impact to an ecosystem sustainability and human health. These days, the detection and measurement of heavy metals pollution in an environment requires time, costly equipment, and labored process. This studies tried to manage the utilization and application of the silver nanoparticles from biological method synthesis using *Diospyros blancoi* A.DC. (Velvet apple) as colorimetric indicator. Indicator solution was made by adding ligand polyvinyl alcohol (PVA) and also L-cysteine with silver nanoparticles. Then mixed with several kinds of metal ions. The indicator used to detect the presence of Cu^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} , dan Zn^{2+} kations. The addition of ligand PVA showed color changes and UV-Vis shifting in Cu^{2+} 1000 ppm detection. Meanwhile, the addition of L-cysteine showed the same on the detection of Zn^{2+} on the levels of 1000 ppm. Both of modified indicators solutions even with L-cystein or PVA changed into clear solution in addition of Hg^{2+} 1000 ppm. The testing result of certain modified indicator indicate sensitivity and selectivity to the presence of Cu^{2+} , Zn^{2+} and Hg^{2+} metal ions at 1000 ppm.

Keywords: Biosynthesis; colorimetric indicator; heavy metal; ligand ; silver nanoparticles.

1. PENDAHULUAN

Logam berat merupakan salah satu polutan yang mengakibatkan masalah bagi lingkungan, terutama yang bersumber dari industri. Pencemaran lingkungan oleh logam berat akan berdampak langsung terhadap keberlangsungan suatu ekosistem, di antaranya mencemari sumber air, meracuni biota yang tinggal di

lingkungan tersebut sehingga menghambat pertumbuhan dan perkembangannya. Selain itu, logam berat juga dapat terakumulasi dalam rantai makan di ekosistem tersebut (Lestari & Edward 2004; Bradl *dkk.* 2005; Karamah 2008). Masalah kesehatan yang ditimbulkan dari pencemaran logam berat juga sangat berbahaya, di antaranya karena dapat mengakibatkan kerusakan sistem saraf dan kegagalan fungsi organ, seperti paru dan ginjal (Darbha *dkk.* 2008).

Logam berat yang sering terdapat sebagai pencemaran air di antaranya ialah Hg, Pb, Cd, Cr, Cu, Ni, Mn dan Zn (Evangelou 1998). Faktor yang menyebabkan logam berat tersebut dikelompokkan ke dalam zat pencemar ialah karena logam berat tidak dapat terurai melalui biodegradasi seperti pencemar yang berasal dari bahan organik. Selain itu, logam berat dapat terakumulasi dalam lingkungan terutama dalam sedimen sungai dan laut, karena dapat berikatan dengan senyawa organik dan anorganik yang dapat membentuk radikal bebas (Tarigan *dkk.* 2003; Bradl 2005). Selama ini, metode identifikasi dan pengukuran logam berat melalui berbagai proses yang cukup kompleks dan memakan waktu, serta biaya analisis yang tidak murah. Peralatan seperti *Atomic Absorption Spectrometry* (AAS) (Kun & Xin 2010) dan *Inductively Coupled Plasma* (ICP) (Fang Chai *dkk.* 2010) merupakan alat yang umum digunakan untuk menganalisis logam berat. Akan tetapi, dibutuhkan waktu untuk preparasi sampel dan tidak dapat dilakukan langsung di lapangan.

Nanopartikel perak (NPP) diketahui memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan nanopartikel emas dan nanopartikel logam lainnya, di antaranya ialah sifat optisnya yang lebih baik daripada nanopartikel emas. Kelemahan NPP terletak pada ketidakstabilannya jika dibandingkan dengan nanopartikel emas, di mana permukaan NPP rentan mengalami oksidasi (Caro *dkk.* 2010). Namun demikian, potensi pemanfaatannya sebagai indikator hingga sensor sangatlah terbuka luas, di antaranya sebagai deteksi kolorimetri berbasis nanopartikel untuk deteksi ion logam ataupun penanda biomolekular (Salata 2004; Ling *dkk.* 2008).

Seiring dengan perkembangan teknologi 10 tahun ke belakang ini, diketahui bahwa nanopartikel perak berpotensi digunakan sebagai sensor

kolorimetri untuk mendeteksi keberadaan logam berat. Hingga saat ini, pengembangan nanopartikel sebagai indikator kolorimetri dapat dilakukan dengan ataupun tanpa modifikasi permukaannya. Aplikasi nanopartikel sebagai detektor kolorimetri pada prinsipnya ialah mendeteksi keberadaan ion logam berat (analit) berdasarkan pada kemampuannya bereaksi dengan ligan. Senyawa-senyawa seperti polimer, asam amino, dan senyawa-senyawa organik lain dapat digunakan sebagai ligan (Wang *dkk.* 2006; Jiang & Yu 2008; Caro *dkk.* 2010). Ligan tersebut akan berikatan dengan atom logam membentuk suatu struktur yang kompleks dan berperan sebagai donor dan akseptor elektron dari ion yang ingin dianalisis, sehingga membentuk ikatan logam-ligan (Chatterjee *dkk.* 2009; Fang Chai *dkk.* 2010).

Li *dkk.* (2009) telah berhasil menggunakan nanopartikel emas untuk deteksi timbal (Pb^{2+}), tanpa dimodifikasi. Sementara Huang dan Tsung (2006) serta Fang Chai *dkk.* (2010) berhasil menggunakan nanopartikel emas dan nanopartikel perak yang dimodifikasi dengan L-sisteina dan MPA (*Mercaptopropionic*) untuk deteksi merkuri (Hg^{2+}). Perubahan warna dari indikator akan terjadi pada saat nanopartikel yang dimodifikasi bereaksi dengan polutan yang ingin dideteksi. Selanjutnya, ligan tersebut akan berikatan dengan ion logam yang ingin dideteksi (analit). Akibatnya nanopartikel akan mengalami perubahan yang akan teramati secara visual. Perubahan warna yang terjadi disebabkan oleh adanya pergeseran energi plasmon sehingga panjang gelombang dari nanopartikel yang termodifikasi juga akan berubah (Caro *dkk.* 2010; Wang *dkk.* 2010). Perubahan warna itulah yang menjadi indikasi terjadinya reaksi dengan ion-ion logam yang ingin dideteksi. Hal tersebut akan memudahkan monitoring dengan mata telanjang dan tidak diperlukan instrumen tertentu (Fang Chai *dkk.* 2010).

Selama ini nanopartikel yang diaplikasikan sebagai detektor kolorimetri umumnya berasal dari hasil sintesis bahan kimia anorganik. Pada penelitian ini, akan digunakan air rebusan dari daun kering Bisbul (*Diospyros blancoi* A.DC.), kemudian direaksikan dengan prekursor $AgNO_3$. Selanjutnya, nanopartikel perak hasil biosintesis akan dimodifikasi untuk diketahui potensinya sebagai indikator

kolorimetri dari keberadaan ion logam berat tertentu. Jenis ligan baik berupa polimer dan asam amino, waktu pencampuran ligan, serta beberapa konsentrasi analit akan diujicobakan untuk mengetahui sensitivitas dan selektivitas dari larutan indikator yang dibuat. Penelitian ini merupakan pijakan awal dari pengembangan indikator kolorimetri berbasis nanopartikel. Di masa mendatang, diharapkan dapat dihasilkan indikator kolorimetri yang efektif dan selektif terhadap logam berat dengan menggunakan sensor kolorimetri berbasis nanopartikel perak. Diharapkan, aplikasi ini dapat menjadi solusi alternatif pendeteksian polutan yang praktis, cepat, dan akurat yang memungkinkan untuk analisis langsung di lapangan.

2. BAHAN DAN CARA KERJA

2.1. Bahan Kimia dan alat gelas

AgNO_3 diperoleh dari Dhucefa Biochmies Belanda. Polivinil alkohol (PVA), L-sisteina, HgCl_2 , $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ diperoleh dari Merck. Alat-alat gelas yang digunakan sebelumnya telah dibilas dengan larutan untuk dekontaminasi residu logam pada peralatan gelas. Larutan dekontaminasi yang digunakan mengandung 2% NaOH dan 1% Na_2EDTA . Peralatan gelas direndam selama 2 jam dalam larutan tersebut, kemudian dibilas beberapa kali dengan akuades (Shugar & Ballinger 2000).

2.2. Biosintesis nanopartikel perak

Nanopartikel perak diperoleh melalui proses biosintesis dengan mereaksikan AgNO_3 dengan air rebusan daun *Diospyros blancoi* A. DC. (Bisbul) kering. Daun dipetik dari pohon Bisbul yang tumbuh di lingkungan kampus FMIPA UI. Waktu pengambilan daun dilakukan pada bulan Januari 2011. Daun yang telah dipetik dicuci hingga bersih dengan akuades. Kemudian daun tersebut dikeringanginkan hingga air cucian tiris. Selanjutnya, daun dikeringkan pada suhu 40 ± 2 °C. Daun yang telah kering dipotong-potong lalu ditimbang seberat 1 gram. Potongan daun lalu dididihkan selama 5 menit dalam 50 mL akuabides

dalam Erlenmeyer 500 mL. Setelah mencapai suhu ruang, air rebusan dituang dan disaring dengan menggunakan kertas Whatman No.1.

Sementara itu, larutan stok AgNO_3 dengan konsentrasi 1 mM dibuat dengan menimbang 0,017 gram serbuk AgNO_3 . Serbuk tersebut dilarutkan dengan akuabides hingga 100 mL. Biosintesis dilakukan dengan mencampurkan filtrat air rebusan dan AgNO_3 1 mM dengan rasio 1:10 (v:v). Pengukuran pH larutan dilakukan dari waktu ke waktu. Selain itu, diujikan pula pemberian perlakuan mekanik saat proses biosintesis. Campuran air rebusan dan AgNO_3 diaduk selama 2 jam. Kemudian dibandingkan dengan campuran yang tidak mengalami perlakuan mekanik.

2.3. Modifikasi Nanopartikel perak

Modifikasi nanopartikel perak menjadi larutan indikator dilakukan dengan beberapa tahapan, yaitu variasi waktu penambahan ligan, jenis ligan, dan rasio volume dari Air rebusan: AgNO_3 : ligan. Enam larutan indikator dibuat sebagai berikut.

- a. **Indikator 1:** Larutan indikator 1 dibuat dengan mencampurkan air rebusan, AgNO_3 1 mM, dan PVA 1% dengan rasio volume larutan (1:10:3) 10:100:30 ml (v:v:v). Larutan tersebut diaduk selama 2 jam. Kemudian digunakan untuk pengujian setelah 24 jam.
- b. **Indikator 2:** Pada larutan indikator 2, campuran air rebusan dan AgNO_3 1 mM ditambahkan PVA 1% setelah 1 jam, dengan rasio (1:10:3) 10:100:30 ml (v:v:v). Pengadukan selama 2 jam dilakukan setelah penambahan ligan. Larutan digunakan untuk pengujian setelah 24 jam.
- c. **Indikator 3:** Campuran air rebusan dan larutan AgNO_3 1 mM ditambahkan PVA 1% (1:10:3) 10:100:30 ml (v:v:v) setelah 24 jam. Setelah penambahan ligan, larutan diaduk selama 2 jam. Larutan digunakan setelah 24 jam.
- d. **Indikator 4:** Campuran air rebusan dan AgNO_3 1 mM ditambahkan PVA 1% setelah 24 jam dengan rasio (1:10:1) 10:100:10 ml (v:v:v). Tahapan selanjutnya sama dengan pembuatan larutan indikator 3.

- e. Indikator 5:** Campuran air rebusan dan AgNO_3 1 mM ditambahkan dengan L-sisteina 0,1 mM setelah 24 jam dengan rasio (1:10:2) 1:100:20 ml (v:v:v). Tahapan selanjutnya sama dengan pembuatan larutan indikator 3.
- f. Indikator 6:** Campuran air rebusan dan AgNO_3 1 mM ditambahkan dengan L-sisteina 1 mM setelah 24 jam dengan rasio (1:10:2) 1:100:20 ml (v:v:v). Tahapan selanjutnya sama dengan pembuatan larutan indikator 3.

2.4. Karakterisasi larutan indikator dengan UV-Vis

Larutan indikator diamati mulai dari proses biosintesis hingga sesaat sebelum dan setelah penambahan ligan. Setelah penambahan ligan indikator dikarakterisasi dengan dengan spektrofotometer UV-Vis [Thermo UV-Vis 10S Genesys] pada resolusi 1 nm dengan jangkauan λ 280—700 nm. Waktu-waktu karakterisasi ialah saat 1 jam (saat pengadukan), 2 jam (tepat setelah pengadukan), dan 24 jam.

2.5. Deteksi kolorimetri logam berat

Setiap larutan analit yang mengandung ion Hg^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} , dan Zn^{2+} sebanyak 1 mL dengan konsentrasi 0,1; 1, 10, 100, 1000 ppm ditambahkan dengan 2 ml larutan indikator. Perubahan warna larutan yang terjadi diamati hingga 15 menit. Selanjutnya larutan hasil pengujian dikarakterisasi dengan spektrofotometer UV-Vis [Thermo UV-Vis 10S Genesys] pada resolusi 1 nm dikisaran λ 280—700 nm.

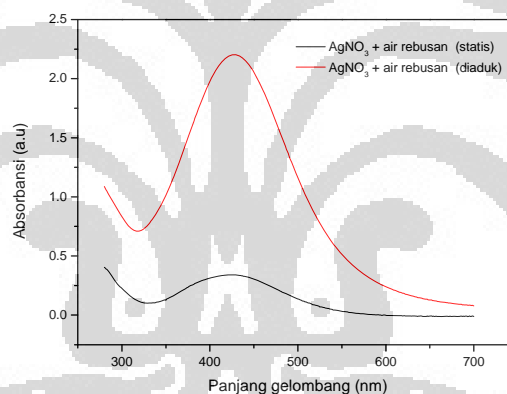
3. HASIL

Hasil yang diperoleh berupa spektrum UV-Vis dari perlakuan mekanik pada tahapan biosintesis, pembuatan indikator terkait waktu penambahan ligan, jenis ligan, dan rasio volume campuran air rebusan, prekursor perak dan ligan

untuk pembuatan indikator, serta pengujian larutan indikator untuk deteksi ion logam berat.

3.1. Pengaruh Perlakuan Mekanik Terhadap Proses Biosintesis

Perlakuan mekanik berupa pengadukan selama 2 jam dalam proses biosintesis menunjukkan adanya kenaikan nilai absorbansi yang cukup signifikan. Jika dibandingkan dengan campuran air rebusan dengan AgNO_3 tanpa pengadukan atau statis, nilai absorbansi yang diperoleh melonjak cukup jauh (Gambar 3.1.1). Sementara nilai λ_{maks} dari puncak spektrum absorpsi kedua perlakuan tersebut sama, yaitu berada dikisaran 430 nm. Nilai λ_{maks} yang tersebut menunjukkan spektrum absorpsi dari NPP. Warna larutan yang terbentuk kuning kecokelatan.

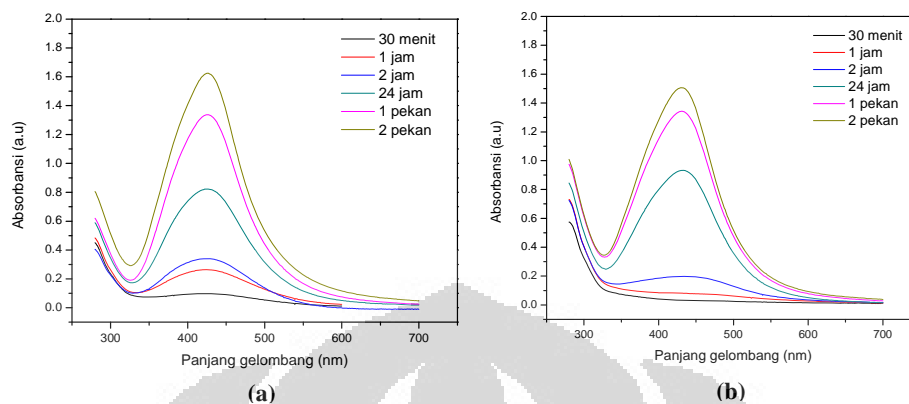


Gambar 3.1.1. Hasil spektrum absorbansi dari 3 jenis larutan, (a) AgNO_3 +air rebusan tanpa pengadukan; (b) AgNO_3 +air rebusan dengan pengadukan selama 2 jam.

3.2. Pembuatan larutan indikator

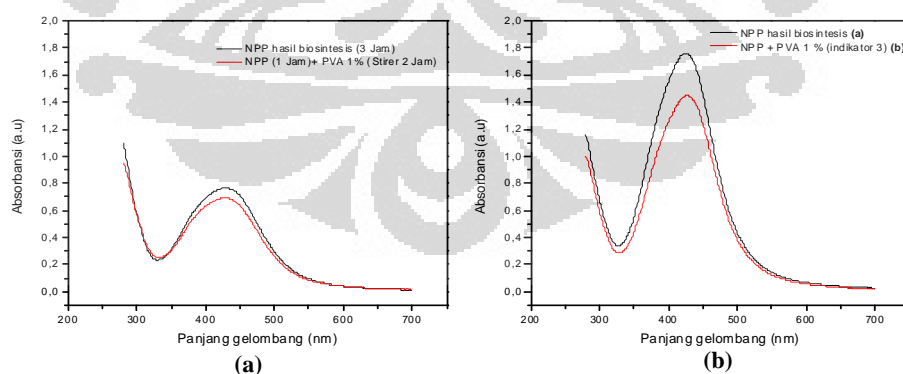
Pencampuran air rebusan daun bisbul dengan AgNO_3 dan PVA 1 % pada rasio (1:10:3) secara bersamaan menunjukkan hasil yang hampir serupa dengan proses biosintesis (Gambar 3.2.1a & 3.2.1b). Pada proses tersebut terjadi pertambahan nilai absorbansi dari waktu ke waktu. Selain itu, juga terbentuk spektrum absorpsi λ_{maks} dikisaran 430 nm yang merupakan spektrum absorpsi

NPP. Namun demikian, pada larutan dengan penambahan PVA terlihat nilai absorbansi cenderung lebih rendah daripada tanpa penambahan PVA.



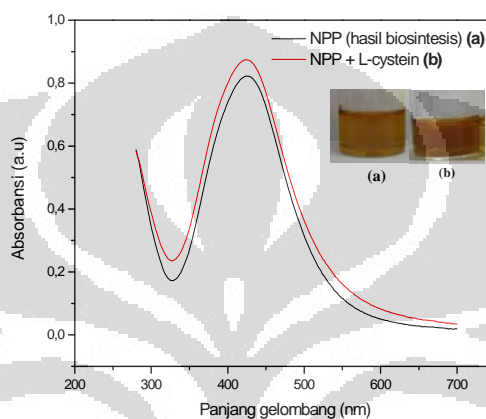
Gambar 3.2.1. Karakterisasi hasil biosintesis (a) dan larutan indikator 1; Air rebusan bisbul kering: AgNO_3 1 mM:PVA 1 % = 1:10:3 (v:v:v) (b).

Penambahan PVA memperlihatkan nilai absorbansi yang lebih rendah, tetapi setelah 24 jam nilai absorbansi kedua larutan tersebut cenderung serupa. Berdasarkan hasil tersebut diduga penambahan PVA menjadikan reaksi lebih lambat karena konsentrasi AgNO_3 dan air rebusan menjadi lebih rendah, sehingga dibutuhkan waktu yang sedikit lebih lama hingga pertumbuhan NPP menjadi lebih optimal. Sementara itu, pada penambahan PVA setelah 1 jam dan 24 jam ke dalam campuran air rebusan dan AgNO_3 , memperlihatkan penurunan nilai absorbansi.



Gambar 3.2.2. Hasil karakterisasi larutan indikator 2 (a) dan larutan indikator 3 (b).

Penambahan ligan asam amino L-sisteina yang dilakukan setelah 24 jam juga tidak menunjukkan tidak terjadi pergeseran spektrum absorpsi dari kisaran 430 nm, tetapi terdapat kenaikan nilai absorbansi seiring dengan warna larutan indikator yang cenderung menjadi coklat gelap (Gambar 3.2.3). Spektrum absorpsi yang diperoleh juga berada dikisaran 430 nm, seperti pada larutan indikator 1. Baik Setelah penambahan PVA dan L-sisteina tidak terlihat adanya pergeseran panjang gelombang yang cukup signifikan.

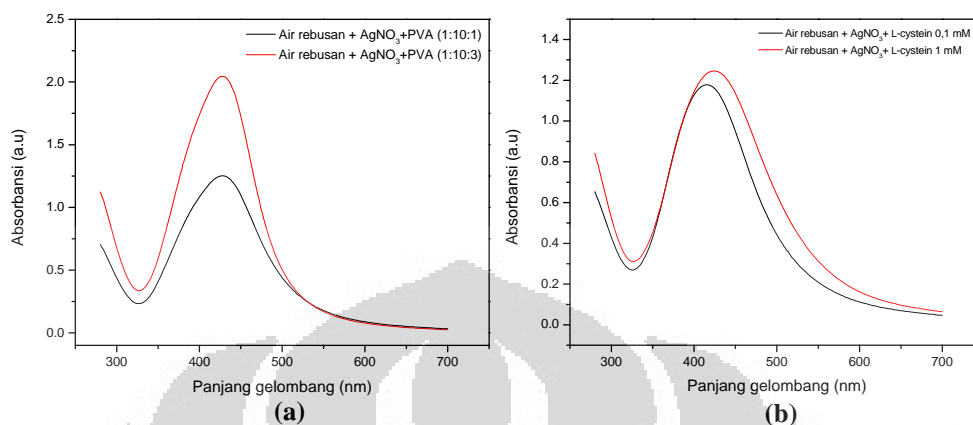


Gambar 3.2.3. Hasil karakterisasi larutan indikator 5; Air rebusan bisbul + AgNO₃ 1 mM + L-sisteina = 1:10:2 (v:v:v).

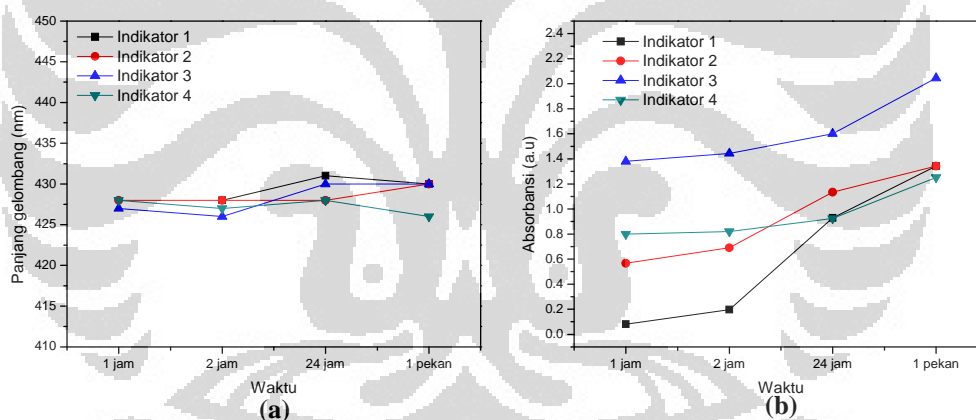
3.3. Pengaruh Rasio Volume dan Konsentrasi Ligan

Berdasarkan hasil spektrofotometer UV-Vis, variasi konsentrasi ligan hanya memengaruhi nilai absorbansi. Gambar 3.3.1 menunjukkan semakin tinggi rasio dan konsentrasi ligan, maka nilai absorbansi akan turut meningkat. Pada penambahan PVA dengan rasio yang lebih tinggi, terlihat lebar puncak semakin mengecil. Sementara itu, pengamatan reaksi dari waktu ke waktu berdasarkan spektrum absorpsinya, larutan indikator 1 hingga indikator 4 menunjukkan nilai λ_{maks} yang cenderung stabil dikisaran 425—435 nm. Gambar 3.3.2. memperlihatkan nilai absorbansi larutan indikator saat 1 jam hingga 1 pekan. Nilai absorbansi terus cenderung mengalami peningkatan dari waktu ke waktu hingga 1 pekan. Berdasarkan nilai absorbansi dan spektrum absorpsi tersebut dapat diketahui waktu pembentukan, stabilitas, dan terjadinya agregasi dari NPP

yang terbentuk (Patakvalfy *dkk.* 2004). Hasil yang diperoleh menunjukkan masih terjadi reaksi pertumbuhan NPP hingga 1 pekan.



Gambar 3.3.1 Perbandingan rasio (a) air rebusan + AgNO₃ + PVA 1:10:1 dan 1:10:3 (v:v:v) dan konsentrasi penambahan L-sisteina 0,1 mM dan 1 mM.

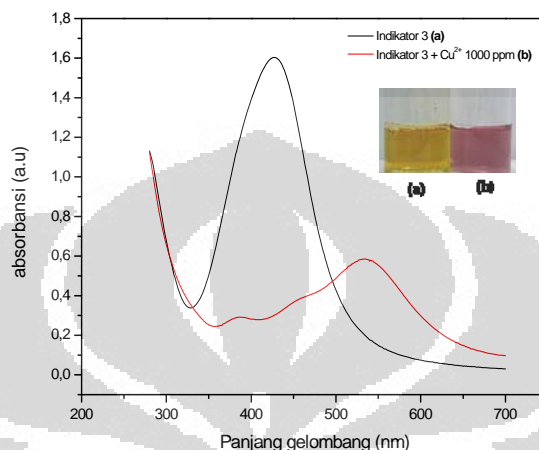


Gambar 3.3.2. Pergeseran panjang gelombang dari waktu ke waktu pada setiap larutan indikator. Keterangan: Indikator 1 (Air rebusan+AgNO₃+PVA) (1:10:3); indikator 2 (air rebusan+ AgNO₃) 1 jam + PVA (1:10:3); indikator 3 (air rebusan+ AgNO₃) 24 jam + PVA; indikator 4 (air rebusan+ AgNO₃) 24 jam + PVA (1:10:1).

3.4. Pengujian Larutan Indikator untuk Deteksi Ion Logam Berat

Gambar 3.4.1 memperlihatkan hasil pengujian larutan indikator 3 terhadap ion Cu²⁺ pada kadar 1000 ppm. Hasil spektroskopi tersebut menunjukkan adanya pergeseran λ_{maks} dari 427 nm menjadi 535 nm dan perubahan warna larutan dari

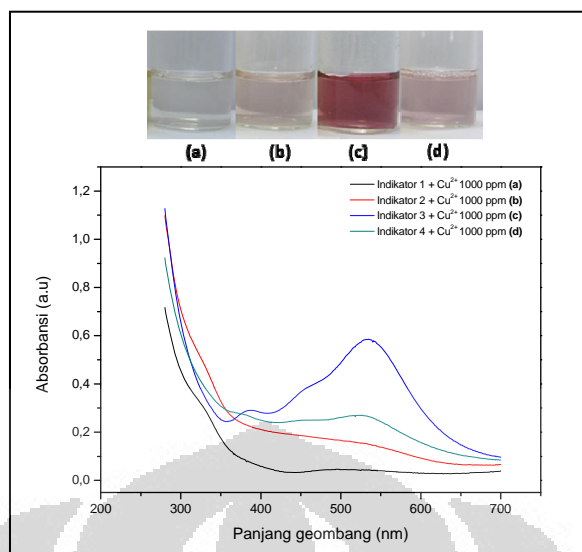
cokelat kekuningan menjadi ungu. Sementara itu, jika dibandingkan antara larutan indikator 1, 2, 3, dan 4, yang menghasilkan warna paling nyata dalam mendeteksi ion Cu^{2+} pada kadar 1000 ppm berturut-turut ialah larutan indikator 3, 4, 2, dan 1. Hal tersebut juga didukung oleh hasil spektroskopinya seperti yang terlihat pada Gambar 3.4.2.



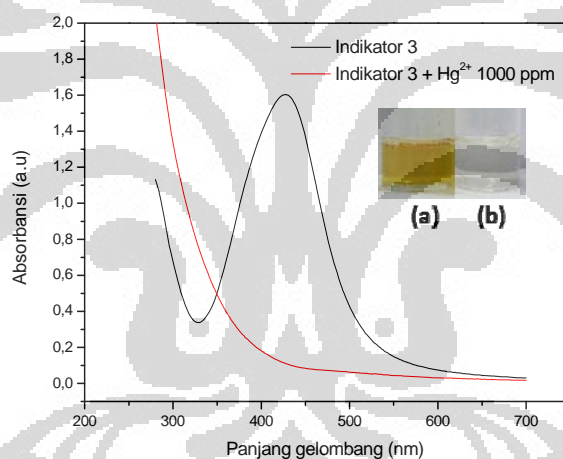
Gambar 3.4.1. Pengujian larutan indikator 3 terhadap ion Cu^{2+} 1000 ppm.

Perubahan warna yang terjadi dalam waktu kurang dari 15 menit. Semakin pudar warna, spektrum absorbansinya cenderung semakin rendah dan tidak terbentuk puncak absorpsi. Pada pengujian larutan indikator 2 dan 4 dan perubahan warna yang terjadi tidak nyata pada larutan indikator. Pengujian larutan indikator 1 serta indikator 2 dan 4 pada kadar Cu^{2+} 1000 ppm, hanya menghasilkan larutan yang bening dan cenderung merah muda. Sementara dari hasil spektroskopi tidak terdeteksi adanya puncak ataupun puncak yang terbentuk melebar dan terjadi penurunan nilai absorbansi.

Sementara pada pengujian larutan indikator 1, 2, 3, 4, dan 5 terhadap keberadaan ion Hg^{2+} menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda. Pengujian ion Hg^{2+} pada kadar 100 dan 1000 ppm menunjukkan adanya perubahan warna larutan menjadi jingga dan bening. Hasil spektroskopinya menunjukkan pada kedua kadar tersebut puncak gelombang menghilang dengan grafik yang melebar dan nilai absorbansi menurun (Gambar 3.4.3).

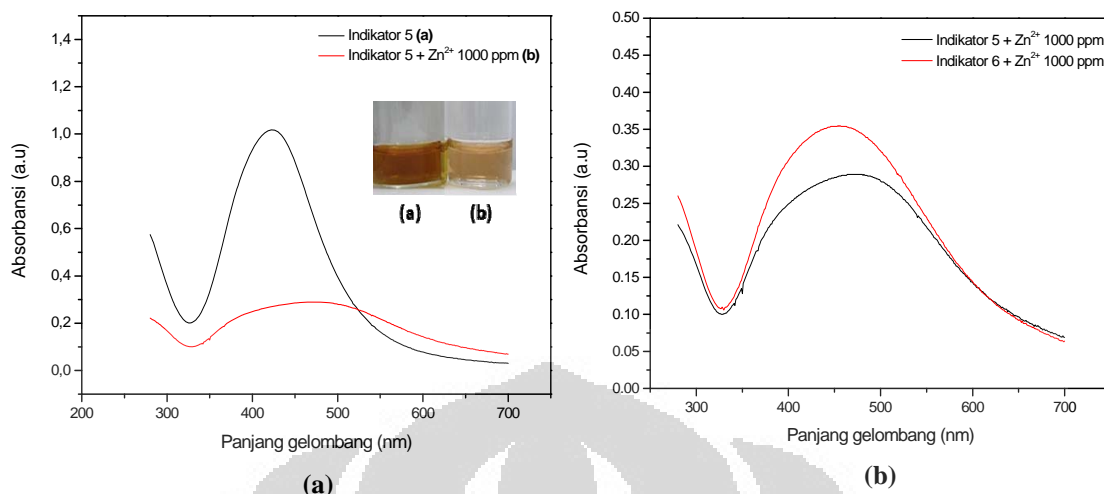


Gambar 3.4.2. Pengujian larutan indikator 1(a); indikator 2 (b); indikator 3 (c); dan indikator 4 (d); untuk deteksi ion Cu^{2+} 1000 ppm.



Gambar 3.4.3. Pengujian larutan indikator 3 untuk deteksi ion Hg^{2+} 1000 ppm.

Pengujian larutan indikator 5 dan 6, menunjukkan adanya perubahan warna dan pergeseran panjang gelombang. Warna berubah cokelat menjadi jingga dalam waktu kurang dari 15 menit. Warna larutan juga cenderung berubah menjadi dari kuning kecokelatan menjadi jingga dalam waktu kurang dari 15 menit. Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya pergeseran panjang gelombang dari λ 415 nm menjadi 464 nm dan pelebaran puncak absorbansi (Gambar 3.4.4). Seluruh larutan yang diujikan memiliki pH dikisaran 3—5.



Gambar 3.4.4. Pengujian larutan indikator 5 (NPP + L-sisteina 0,1 mM) untuk deteksi ion Zn^{2+} pada beberapa konsentrasi.

4. PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil spektrum UV-Vis dari hasil biosintesis menggunakan campuran air rebusan daun kering bisbul dengan $AgNO_3$, pengadukan yang kontinu selama proses biosintesis dapat memengaruhi kecepatan dan jumlah nanopartikel perak yang dihasilkan. Pengadukan mampu mempercepat terjadinya reaksi serta menghomogenkan larutan. Proses tersebut juga mampu mencegah terjadi agregasi antarnanopartikel sehingga terdistribusi merata di dalam larutan (Cuiping Han & Haibing Li 2010).

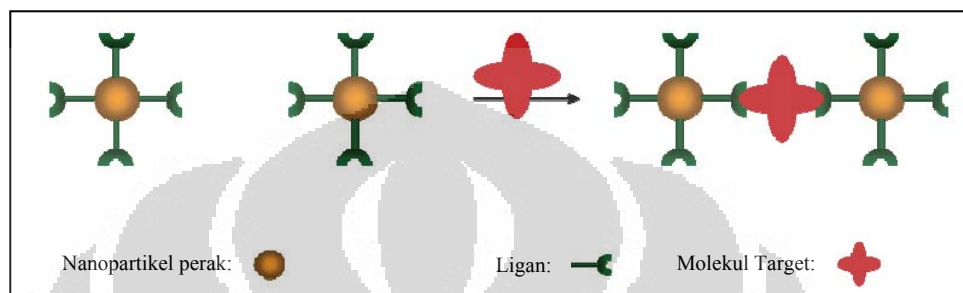
Pada proses pembuatan larutan indikator, pergeseran nilai λ_{maks} dapat menjadi salah satu karakter apakah terjadi penempelan ligan atau tidak pada NPP. Pengadukan larutan selama 2 jam setelah penambahan ligan bertujuan untuk menempelkan ligan dengan nanopartikel perak. Selain sebagai ligan, PVA diketahui juga dapat berperan sebagai reduktan dan penstabil dalam proses sintesis nanopartikel perak. Gugus hidroksil dari PVA diduga berperan mampu berperan dalam proses reduksi perak (Patakfalvi *dkk.* 2004, Silva *dkk.* 2008). Sementara itu, pada penambahan L-sisteina sebagai ligan diduga terjadi ikatan antara gugus thiol dengan nanopartikel logam, membentuk ikatan logam-sulfur, seperti yang telah diungkapkan oleh Fang Chai *dkk.* 2010 dan Caro *dkk.* 2010.

Nilai λ_{maks} merupakan nilai SPR (*surface plasmon resonance*), pergeseran nilainya dapat menunjukkan perubahan pada partikel di antaranya terkait dengan ukuran partikel. Ukuran dari nanopartikel perak dipengaruhi oleh capping agent (agen penstabil). Variasi dari nilai λ_{maks} dapat menunjukkan kecenderungan perubahan ukuran dari partikel (Tripathy *dkk.* 2010). Ukuran dan bentuk dari NPP yang digunakan juga dapat memengaruhi efektivitas dari penempelan dan ikatan antara NPP dengan ligan, serta sifat kimia dan fisiknya. NPP hasil biosintesis dengan nilai λ_{maks} 430 nm, diperkirakan memiliki ukuran antara 50—60 nm. Cuiping Han dan Haibing Li (2010) menggunakan NPP dengan ukuran sekitar 20 nm yang dimodifikasi untuk mendeteksi melamin pada susu.

NPP yang dihasilkan dari proses biosintesis berupa cairan. Menurut Tripathy *dkk.* (2010), nanopartikel logam yang terbentuk dalam larutan perlu untuk distabilkan dengan mencegah terjadinya gaya Van der Waals yang dapat menyebabkan koagulasi (pengumpulan) antarpartikel. Stabilisasi nanopartikel logam tersebut dapat dilakukan dengan pemberian surfaktan atau polimer yang akan menciptakan penghalang elektrostatis atau mengelilingi permukaan partikel. Sintesis nanopartikel perak dengan metode biosintesis diduga akan meninggalkan senyawa bioorganik yang berperan sebagai *capping agent* di sekeliling nanopartikel yang berfungsi sebagai penstabil. Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan larutan indikator yang dihasilkan belum terlalu stabil. Selain itu, daya tahan terhadap penyimpanan hingga waktu tertentu juga perlu diketahui. Penggunaan air rebusan untuk biosintesis nanopartikel perak selain sebagai pereduksi, juga dapat berperan sebagai penstabil begitupula dengan jenis ligan yang digunakan. Oleh karena itu, diperlukan senyawa yang mampu berperan sebagai penstabil agar pertumbuhan NPP tersebut dapat dikontrol.

Prinsip detektor kolorimetri ialah bergantung pada perubahan LSPR (*localized surface plasmon resonance*) dan agregasi antarpartikel (NPP+ligan) dengan analit yang juga dikenal sebagai sensor agregasi. Terjadinya agregasi antarpartikel dapat dilihat pada Gambar 4.1. Peningkatan medan listrik pada permukaan nanopartikel dapat mengakibatkan nanopartikel saling beragregasi. Umumnya, agar nanopartikel perak tidak saling mengalami agregasi, maka

dilakukan penambahan anion tertentu, seperti Cl^- , $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{COO})_3)^{3-}$, atau polimer, seperti PVA (polivinil alkohol), PVP (polivinil pirolidon). Anion-anion tersebut akan diabsorpsi pada permukaan nanopartikel logam. Nilai LSPR akan bergeser ke arah panjang gelombang merah (kanan) dan mengalami pelebaran, saat nanopartikel perak mengalami agregasi (Silva *dkk.* 2008, Caro *dkk.* 2010, Fang Chai *dkk.* 2010).



Gambar 4.1. Mekanisme agregasi pada sensor kolorimetri
[Sumber: Caro *dkk.* 2010]

Fang Chai *dkk.* (2010) telah menggunakan nanopartikel emas yang dimodifikasi (fungsionalisasi) dengan asam amino L-sisteina. L-sisteina berperan dalam mengikat logam, membentuk ikatan logam-ligan. Hasil pencampuran larutan nanopartikel emas yang dimodifikasi tersebut menghasilkan warna merah, kemudian sesudah ditambahkan $10 \mu\text{M Hg}^{2+}$ larutan berubah warna menjadi biru. Sementara pada penambahan larutan Hg^{2+} $0,1$ — $10 \mu\text{M}$ tidak terjadi agregasi sehingga tidak terjadi perubahan warna, lalu dilakukan penyinaran dengan sinar UV. Penyinaran dengan UV mampu mempercepat laju reaksi dan memicu agregasi antarpartikel. Sementara itu, penggunaan polimer jenis PVA sebagai agen penstabil nanopartikel perak telah dilakukan oleh Mbhele *dkk.* 2003 dan Patakvalfi *dkk.* 2004. Polimer merupakan salah satu material yang baik untuk mengikat logam, karena memiliki sifat optik dan elektriknya yang unik. PVA bersifat netral sehingga mampu menstabilkan partikel dan mencegah terjadinya agregasi antara NPP (Patakvalfi *dkk.* 2004). Jenis, waktu penambahan ligan, rasio, dan konsentrasi ligan mampu memengaruhi sensitifitas dan selektifitas terhadap analit. Selain itu, jenis, bentuk dan ukuran NPP yang digunakan

5. KESIMPULAN

Larutan indikator yang dibuat pada penelitian ini, cenderung sensitif dan selektif terhadap ion logam Cu^{2+} dan Zn^{2+} pada kadar 1000 ppm. Larutan tersebut ialah larutan indikator 3 serta indikator 5 dan 6. Hal tersebut menunjukkan NPP hasil biosintesis memiliki potensi untuk diaplikasikan sebagai indikator kolorimetri untuk mendeteksi keberadaan logam berat. PVA dan L-sisteina dapat digunakan sebagai ligan. PVA selektif terhadap keberadaan Cu^{2+} sedangkan L-sisteina selektif terhadap keberadaan Zn^{2+} . Jenis, proses pencampuran, dan konsentrasi ligan saat pembuatan indikator memengaruhi sensitivitas dan selektivitas dari indikator terhadap analit. Selanjutnya, dibutuhkan perlakuan tambahan seperti penambahan garam atau penyinaran dengan UV untuk memicu terjadinya agregasi antarpartikel. Oleh karena itu, diperlukan modifikasi lebih lanjut agar berhasil diperoleh detektor kolorimteri yang mampu mendeteksi keberadaan kontaminan logam berat yang lebih selektif dan sensitif pada kadar tertentu dan konsentrasi yang lebih rendah.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Bradl, H.B. 2005. Source and Origins of Heavy Metals. *Dalam*: Bardl, H.B. (ed.). 2005. *Heavy metals in the environment vol. 6*. Elsevier, Inc., Boston: 1—27.
- Bradl, H.B., C. Kim, U. Kramar & D. Stüben. 2005. Interaction of heavy metals. *Dalam*: Bardl, H.B. (ed.). 2005. *Heavy metals in the environment vol. 6*. Elsevier, Inc., Boston: 28—164.
- Caro, C., P.M. Castillo, R. Klippstein, D. Pozo & Ana P. Zaderenko. 2010. Silver nanoparticles: sensing and imaging application. *Dalam*: Perez, D.P. (ed). 2010. *Silver nanoparticles*. Intech, India: 210—223.
- Fang Chai, Chungang Wang, Tingting Wang, Zhanfang Ma & Zhongmin Su. 2010. L-cysteine functionalized gold nanoparticles for the colorimetric detection of Hg^{2+} induced by ultraviolet light. *Nanotechnology* **21**: 1—6.

- Chatterjee, U., S.K. Jewrajka & S. Guha. 2009. Dispersion of functionalized silver nanoparticles in polymer matrices: stability, characterization, and physical properties. *Polymer Composites*: 827—834.
- Darbha, G.K., Singh, A.K., Rai, U.S., Yu, E., Yu, H. & P.C. Ray. 2008. Selective detection of mercury (II) ion using nonlinear optical properties of gold nanoparticles. *Journal of American Chemical Society* **130**: 8038—8043.
- Evangelou, V.P. 1998. *Environmental soil and water chemistry: Principles and application*. John Willey & Sons, Inc., New York: xix + 564 hlm.
- Hopkins, W.G. 1999. *Introduction to plant physiology*. 2nd ed. John Wiley & Sons Inc., New York: xv + 512 hlm.
- Cuiping Han & Haibing Li. 2010. Visual detection of melamine in infant formula at 0.1 ppm level based on silver nanoparticles. *Analyst* **135**: 583—588.
- Huang, C.C. & H.T. Chang. 2006. Selective gold-nanoparticle-based “Turn on” fluorescent sensor for detection of mercury(II) in aqueous solution. *Analysis Chemistry* **78**: 8332—8338.
- Jiang, X.C. & A.B. Yu. 2008. Silver nanoparticles: A high sensitive material toward inorganic anions. *Langmuir* **24**: 4300—4309.
- Karamah, E.F., S. Bismo & H.M. Simbolon. 2008. Pengaruh ozon dan konsentrasi zeolit terhadap kinerja proses pengolahan limbah cair yang mengandung logam dengan proses flotasi. *Makara Teknologi* **12**(1): 43—47.
- Kun, L.X., & Xin, W.Z. (2010). Gold Nanoparticle-Based Colorimetric assay for Determination of Lead(II) in Aqueous Media. *Chemical Research in Chinese Universities* **26**(2): 194—197.
- Lestari & Edward. 2004. Dampak pencemaran logam berat terhadap kualitas air laut dan sumber daya perikanan (Studi kasus kematian massal ikan-ikan di Teluk Jakarta). *Makara Sains* **8**(2): 52—58.
- Li, L., Li, B., Qi Y. & J. Yan. 2009. Label-free aptamer-based colorimetric detection of mercury ion in aqueous media using unmodified gold nanoparticles as colorimetric probe. *Analysis Bioanalysis Chemistry* **393**: 2051—2057.

- Ling, J. Sang, Y. & C.Z. Huang. 2008. Visual colorimetric detection of berberine hydrochloride with silver nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **47**: 860—864.
- Mbhele, Z.H., M.G.Salemane, C.G.C.E.van Sittert, J.M.Nedeljkovic, V. Djokovic, & A.S. Luyt. 2003. Fabrication and characterization of silver polyvinyl alcohol nanocomposites. *Chemistry of Materials* **15**: 5019—5024.
- Patakfalvi, R., Virányi, Z. & I. Dékány. 2004. Kinetics of silver nanoparticle growth in aqueous polymer solution. *Colloid and Polymer Science* **283**: 299—305.
- Salata, O.V. 2004. Application of nanoparticles in biology and medicine. *Journal of Nanobiotechnology* **2**: 6 hlm.
- Silva, R., M.H. Kunita, E.M. Giroto, E. Radovanovic, E.C. Muniz, G.M. Carvalho & A.F. Rubira. 2008. Synthetis of Ag-PVA and Ag-PVA/PET-s20 composites by supercritical CO₂ method and study of silver nanoparticle growth. *Journal of Brazilian Chemichal Society* **19**(6): 1224—1229.
- Tarigan, Z. Edwar & A. Rozak. 2003. Kandungan logam berat Pb, Cd, Cu, Zn, dan Ni dalam air laut dan sendimen di muara Sungai Membramo, Papua dalam kaitannya dengan kepentingan budidaya perikanan. *Makara Sains* **7**(3): 119—127.
- Wang, A.L., H.B. Yin, M.Ren, X.N. Cheng, Q.F. Zhou & X.F. Zhang. 2008. Effect of different functional group-containing organics on morphology-controlled synthesis of silver nanoparticles at room temperature. *Acta Metallurgica Sininica (English Letter)* **19**(5): 362—370.
- Wang, Y., F. Yang & X. Yang. 2010. Colorimetric detection of mercury(II) ion using unmodified silver nanoparticles and mercury-specific oligonucleotides. *Applied Material and Interfaces* **2**(2): 339—342.

DISKUSI PARIPURNA

A. Pengaruh Parameter Proses Biosintesis Nanopartikel Perak

Penelitian dilakukan untuk menyeleksi jenis-jenis tumbuhan yang berpotensi untuk biosintesis nanopartikel perak. Proses biosintesis dilakukan dengan mencampurkan filtrat dari air rebusan dengan larutan AgNO_3 1 mM pada perbandingan 5:45 (v:v) (Shankar *dkk.* 2009). Hasil yang diperoleh menunjukkan 15 menit sesudah pencampuran, campuran larutan AgNO_3 dengan air rebusan Mimba, Bisbul, dan Matoa memperlihatkan adanya perubahan warna dari kekuningan hingga kecokelatan ataupun cokelat pekat. Warna yang cokelat yang sangat pekat diperlihatkan oleh campuran larutan air rebusan Mimba dan Matoa, pada saat dan setelah 4 jam. Sementara campuran AgNO_3 dengan air rebusan Bintaro, Dilenia, Pegagan, Kemuning, dan Mahkota dewa baru memperlihatkan adanya perubahan warna larutan setelah 1 jam. Perubahan warna yang terjadi dapat mengindikasikan sedang terjadinya reaksi antara air rebusan dengan AgNO_3 .

Selain warna larutan, juga dilakukan karakterisasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk mengkonfirmasi terbentuknya NPP yang ditandai adanya spektrum λ_{maks} dikisaran 400—500 nm yang merupakan ciri khas spektrum dari NPP. Shankar *dkk.* (2004) sebelumnya telah menggunakan air rebusan daun Mimba untuk biosintesis NPP, diperoleh puncak spektrum λ_{maks} dikisaran 450 nm. Sementara pada penelitian yang dilakukan diperoleh λ_{maks} dikisaran 430—450 nm. Hasil pengukuran spektrum λ_{maks} pada penggunaan air rebusan daun Bisbul menunjukkan adanya puncak dikisaran λ_{maks} 430 hingga 450 nm. Kurva spektrum yang terbentuk juga cenderung lebih simetris dibandingkan dengan Mimba. Namun demikian, pada waktu 24 jam, puncak yang diperoleh tidak sehalus pada waktu-waktu sebelumnya. Hal tersebut disebabkan nilai absorbansi terlalu tinggi.

Sementara itu, pada penggunaan air rebusan daun Matoa untuk biosintesis, terdeteksi adanya spektrum λ_{maks} saat 1 jam, yaitu dikisaran 450 nm. Setelah 1 jam, puncak tersebut semakin melebar dan nilai absorbansi semakin menurun. Hal tersebut menunjukkan bahwa penggunaan air rebusan daun Matoa pada perbandingan tersebut mampu membentuk NPP, tetapi belum stabil. Namun demikian, air rebusan daun Matoa berpotensi untuk digunakan proses biosintesis. Untuk mengoptimalkan peranannya dalam biosintesis dapat dilakukan beberapa variasi proses, seperti rasio volume $AgNO_3$ dengan air rebusan. Selanjutnya, juga dicoba digunakan daun Matoa dalam kondisi segar dan yang telah dikeringkan, serta variasi perbandingan volume air rebusan dengan $AgNO_3$ untuk mengetahui proses yang optimal dalam menghasilkan NPP.

Penggunaan air rebusan daun Mahkota dewa untuk biosintesis menghasilkan perubahan warna larutan dari waktu ke waktu. Hasil pengukuran saat 15 menit hingga 24 jam tidak terdeteksi adanya puncak dikisaran λ_{maks} 400—500 nm, meskipun terdapat kenaikan nilai absorbansi saat 1 jam, tetapi setelah itu nilai absorbansinya menurun. Larutan tersebut juga mengalami penggumpalan dan pengendapan setelah 24 jam. Pada penelitian ini, Mahkota dewa dianggap belum cukup optimal untuk digunakan dalam biosintesis NPP. Perubahan warna larutan menunjukkan terjadinya reaksi secara visual. Akan tetapi, hal tersebut tidak mutlak dapat dijadikan sebagai indikasi nanopartikel perak telah terbentuk. Hal yang sama juga dinyatakan oleh Leela dan Vikenandan (2008), yang mencoba beberapa Famili tumbuhan untuk proses biosintesisnya. Perubahan warna terjadi tetapi beberapa jenis di antaranya tidak terdeteksi adanya spektrum UV-Vis di kisaran 400—500 nm.

Secara keseluruhan hasil spektrum UV-Vis menunjukkan bahwa seluruh tumbuhan, kecuali Mahkota dewa menunjukkan adanya puncak di kisaran 400—500 nm. Hal tersebut menunjukkan ketujuh jenis tumbuhan dapat digunakan untuk biosintesis nanopartikel perak (NPP). Namun pada Matoa, puncak yang menunjukkan karakter dari NPP hanya terdeteksi saat 1 jam, setelah itu tidak terdeteksi adanya spektrum UV-Vis. Sementara pada Mahkota dewa sama sekali tidak terdeteksi. Selanjutnya saat 24 jam keenam jenis tumbuhan, selain Matoa

dan Mahkota dewa, berturut-turut yang memiliki nilai absorbansi yang tertinggi hingga yang terendah ialah Bisbul, diikuti oleh Mimba, Pegagan, Dilenia, Bintaro, dan Kemuning. Hasil biosintesis Matoa dan Mahkota dewa tidak terdeteksi adanya puncak yang menunjukkan NPP tidak terdeteksi saat 24 jam.

Sementara itu, pada variasi proses digunakan daun dalam kondisi segar maupun kering serta variasi rasio volume prekursor AgNO_3 dengan air rebusan (v:v) 1:5; 1:10; dan 1:20. Hasil yang diperoleh menunjukkan penggunaan air rebusan daun segar menghasilkan nilai absorbansi yang lebih tinggi dan panjang gelombang yang bervariasi mulai dari 420 hingga 430 nm. Nilai absorbansi cenderung lebih kecil pada penggunaan daun kering, tetapi nilai panjang gelombangnya cenderung lebih stabil, di kisaran 430 nm.

Hasil biosintesis yang diperoleh dengan menggunakan air rebusan Matoa berkebalikan dengan Bisbul, terutama pada penggunaan daun segar. Penggunaan air rebusan daun segar Matoa saat pengukuran di 4 jam, pada rasio 1:5 (v:v) tidak diperoleh puncak yang nyata dari hasil spektrum UV-Visnya, karena puncak yang terbentuk lebih lebar dan cenderung mendatar. Sementara pada rasio 1:10 dan 1:20 puncak absorbansi semakin terlihat. Hal tersebut menunjukkan pada rasio 1:5, konsentrasi air rebusan cenderung lebih pekat. Namun kondisi tersebut ternyata tidak optimum untuk proses biosintesis sehingga tidak terbentuk NPP tidak terbentuk dan tidak stabil. Penggunaan air rebusan daun kering saat 4 jam, di semua rasio campuran terbentuk terdeteksi adanya spektrum UV-Vis. Kesimpulan sementara, pada Matoa reaksi yang terjadi optimum pada konsentrasi air rebusan yang rendah. Dibutuhkan telaah lebih lanjut, terkait dengan senyawa yang berperan sebagai agen pereduksi pada daun Matoa. Karakter yang hampir sama juga ditunjukkan pada penggunaan air rebusan daun Dilenia dan Pegagan.

Secara keseluruhan hasil yang diperoleh menunjukkan, penggunaan air rebusan dari daun kering cenderung lebih baik daripada penggunaan air rebusan daun dalam kondisi segar. Hasil biosintesis pada setiap rasio terdapat puncak absorbansi dikisaran λ 400—500 nm. Selain itu, rasio 1:10 dan 1:20 menunjukkan hasil yang cenderung lebih stabil daripada rasio 1:5 karena nilai

pergeseran λ_{maks} yang lebih kecil dan nilai absorbansi yang tidak melonjak terlalu tinggi. Hal tersebut akan terkait dengan stabilitas reaksi.

Penggunaan daun dalam kondisi segar maupun kering sebagai parameter proses, bertujuan untuk mengetahui apakah dengan berkurangnya kadar air pada daun akan berpengaruh terhadap proses reaksi. Selain itu, dengan menggunakan daun kering, bahan akan lebih mudah disimpan dan cenderung tahan lebih lama daripada daun segar. Namun demikian, proses pengeringan rentan untuk merusak senyawa kimia tertentu dan hilangnya senyawa kimia yang bersifat volatil yang terdapat pada daun. Tripathy *dkk.* (2010) melakukan pengeringan terhadap daun Mimba sebagai salah satu parameter prosesnya, ternyata penggunaan daun yang telah dikeringkan tidak mampu menghasilkan nanopartikel perak. Hal tersebut diduga proses pengeringan menyebabkan senyawa yang berperan sebagai pereduksi hilang atau rusak. Beberapa senyawa kelompok Terpen merupakan senyawa yang memiliki titik didih di atas 50 °C.

Sementara untuk perbandingan volume air rebusan dengan AgNO₃ dilakukan untuk mencoba mengontrol terjadinya reaksi. Berdasarkan hasil penelitian, Bisbul dan Mimba memiliki laju reaksi yang cenderung cepat, sedangkan Kemuning, Pegagan, Bintaro, dan Dilenia memiliki laju reaksi yang cenderung lambat. Hasil yang diperoleh menunjukkan penggunaan daun dalam kondisi segar dan kering, serta rasio prekursor AgNO₃ dengan air rebusan yang cenderung optimum untuk proses biosintesis dari setiap jenis tumbuhan berbeda-beda. Tripathy *dkk.* (2010) dan Philip *dkk.* (2011), sebelumnya melakukan perbandingan konsentrasi dan rasio dari AgNO₃ dengan air rebusan daun untuk menemukan rasio yang paling optimum untuk proses biosintesis. Berdasarkan hasil penelitian keduanya, ukuran, dan bentuk nanopartikel yang dihasilkan melalui proses biosintesis sangatlah dipengaruhi oleh parameter proses tersebut.

Berdasarkan hasil spektroskopi yang diperoleh dapat diperkirakan ukuran nanopartikel perak yang dihasilkan. Menurut Solomon *dkk.* (2007), pada λ_{maks} dikisaran 420 nm dan FWHM 100—110 nm partikel perak yang diperoleh berukuran 35—50 nm. Sementara pada λ_{maks} di kisaran 438 nm dan FWHM 140—150 nm NPP cenderung memiliki ukuran 60—80 nm. Pada penelitian ini

λ_{maks} yang diperoleh dari hasil biosintesis ketujuh jenis tumbuhan berada di kisaran 420—450 nm dan nilai FWHM dikisaran 70—200 nm. Dengan demikian, dapat diperkirakan ukuran nanopartikel yang dihasilkan pada penelitian ini berdasarkan hasil spektrum UV-Vis-nya berkisar 50—80 nm. Selanjutnya diperlukan karakterisasi lebih lanjut untuk mengonfirmasi bentuk dan ukuran dengan menggunakan TEM.

Setiap jenis tumbuhan memiliki kemampuan dan karakteristik yang berbeda-beda dalam reaksi biosintesisnya. Setiap karakter tersebut memiliki keunikan dan berpotensi untuk digunakan serta dimodifikasi untuk proses biosintesis yang lebih spesifik. Namun demikian, hasil biosintesis menggunakan daun rebusan Bisbul cenderung lebih berpotensi jika dibandingkan dengan penggunaan jenis tumbuhan yang lain, terkait dengan kecepatan reaksi dan warna larutan yang tidak terlalu pekat. Selain itu, Bisbul juga memiliki kurva spektrum UV-Vis yang paling simetris jika dibandingkan dengan 7 jenis tumbuhan lainnya. Berdasarkan hasil tersebut, akan digunakan air rebusan daun Bisbul kering pada rasio 1:10 untuk proses biosintesis NPP yang akan diaplikasikan sebagai indikator kolorimetri logam berat.

B. Kriteria Tumbuhan yang Berpotensi untuk Biosintesis Nanopartikel Perak

Selama 10 tahun ini telah terdapat hampir 100 jenis tumbuhan yang digunakan untuk biosintesis nanopartikel perak. Hal tersebut belum termasuk jenis tumbuhan lainnya yang mampu menyintesis nanopartikel logam lainnya. Pengembangan biosintesis nanopartikel dengan memanfaatkan tumbuhan, dimulai saat para peneliti mencoba memahami kemampuan tumbuhan dalam menyerap ion logam dari lingkungan. Peneliti mulai memanfaatkan tumbuhan untuk *phytomining* atau menambang (ekstraksi) logam berharga dari tumbuhan, seperti emas dan perak, karena kemampuannya dalam mengakumulasi logam tersebut (Parsons *dkk.* 2007). Tumbuhan juga dapat dimanfaatkan untuk fitoremediasi dengan cara mengabsorpsi ion logam, terutama logam berat yang terdapat di lingkungan (Parsons *dkk.* 2007). Beberapa jenis nanopartikel logam yang dapat

dihasilkan oleh tumbuhan ialah platinum (Pt) (Song *dkk.* 2010), emas (Au), dan perak (Ag) (Parsons 2007; Leela & Vivekanandan 2008; Nagarajan 2008).

Setiap jenis tumbuhan dan perlakuan yang diberikan, seperti temperatur ataupun pH akan menghasilkan nanopartikel perak yang memiliki ukuran dan bentuk yang berbeda pula. Tumbuhan *Medicago sativa* menghasilkan bentuk nanopartikel *spherical* dengan ukuran 2—20 nm (Yadav & kumar 2009). Sementara itu, tumbuhan *Azadirachta indica* menghasilkan nanopartikel perak *polydisperse, flat, plate-like* dengan ukuran 5—35 nm (Shankar 2004).

Terjadinya reduksi hingga terbentuknya nanopartikel perak tidak lepas dari peran senyawa tertentu yang terdapat pada jenis tumbuhan yang digunakan. Menurut dugaan Jha *dkk.* (2009) senyawa yang berperan dalam proses reduksi terdiri dari beberapa senyawa metabolit sekunder tumbuhan seperti, senyawa terpenoid jenis *citronellol* dan *geraniol*, lalu keton, aldehyd, amida dan asam karboksilat. Hasil tersebut diperoleh dari analisis IR spektrofotometri (Jha *dkk.* 2009). Sementara Khesarwani *dkk.* (2009) berhipotesis bahwa senyawa yang diduga berperan plastohidrokuinon atau kuinol (Khesarwani *dkk.* 2009). Pada tumbuhan *A. indica*, diduga bahwa terpenoid dan flavonoid dari air rebusan memfasilitasi terjadinya reduksi karena memiliki *surface active molecule stabilizing* (Shankar *dkk.* 2004).

Tumbuhan pada prinsipnya mengandung hampir semua jenis kelompok senyawa metabolit. Hanya saja kadarnya berbeda-beda pada setiap jenis tumbuhan ataupun di setiap organnya. Hasil deteksi kelompok senyawa metabolit sekunder dari kedelapan jenis tumbuhan menunjukkan hampir semua kelompok senyawa metabolit sekunder yang diujikan dimiliki tumbuhan (Tabel 1.1). Hasil pengujian alkaloid merupakan kelompok senyawa yang paling sedikit terdeteksi hanya 4 jenis tumbuhan dari 8 jenis tumbuhan yang terdeteksi mengandung alkaloid. Hal tersebut dapat dimungkinkan oleh kadarnya sangat rendah pada daun yang digunakan sehingga tidak menunjukkan adanya reaksi. Selain itu, juga dicoba dideteksi apakah air rebusan dari daun segar memiliki hasil pendeteksian yang berbeda dengan daun kering. Pendeteksian langsung dari air rebusan dapat dilakukan untuk menguji kelompok saponin, fenol, dan flavanoid.

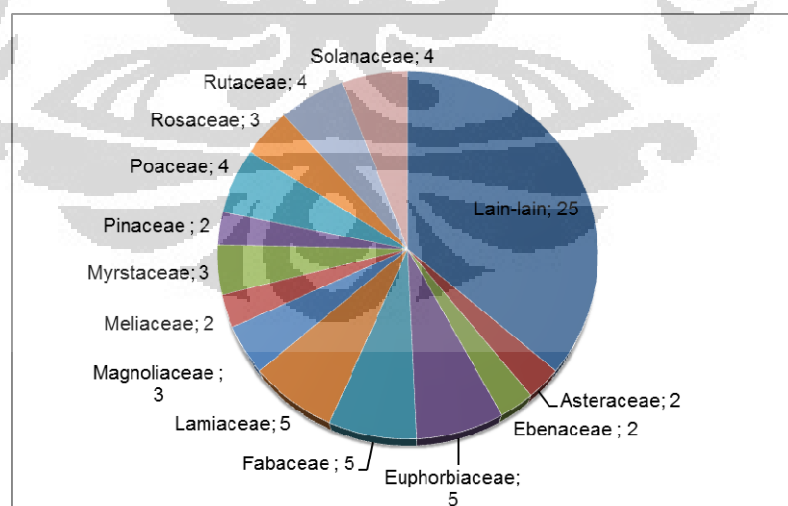
Selain senyawa metabolit sekunder juga terdapat senyawa-senyawa lain seperti senyawa antioksidan dan enzim yang diduga berperan pada proses reduksi ion Ag^+ menjadi nanopartikel perak. Saat reduksi terjadi penambahan elektron, sehingga muatan dari ion Ag menjadi tidak bermuatan (Timberlake 2010). Namun demikian, terdapat kecenderungan bahwa senyawa kelompok terpenoid dan flavanoid diduga memiliki peranan dalam proses biosintesis nanopartikel perak. Namun demikian hal tersebut belum bisa menjadi kesimpulan final, karena perlu dilakukan studi lebih lanjut.

Peneliti-peneliti sebelumnya seperti Shankar *dkk.* (2004) menyakini bahwa senyawa seperti gula-gula pereduksi dan atau senyawa terpenoid yang terdapat di air rebusan daun *Azadiracta indica* A. Juss (Mimba) berperan dalam reduksi ion logam. Sementara senyawa seperti flavanoid dan terpenoid lainnya berperan sebagai molekul penstabil permukaan nanopartikel. Sementara itu, Li *dkk.* 2007, berpendapat pada *Capsicum annum* L. berdasarkan hasil karakterisasi menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) jenis protein yang memiliki gugus amina berperan dalam proses reduksi. Jha & Prasad (2010) yang menggunakan ekstrak etanol dari tumbuhan *Cycas*, menyatakan bahwa proses reduksi terjadi karena adanya senyawa-senyawa fitokimia seperti polifenol, glutathion, metalotionin, dan askorbat yang berperan saat tumbuhan melakukan detoksifikasi logam dari lingkungannya (Lampiran 3B).

Ahmad *dkk.* (2011), menduga, proses reduksi juga terjadi pada saat proses glikolisis. Glikolisis merupakan rangkaian dari 10 tahapan reaksi yang menghasilkan senyawa-senyawa intermediat. Jumlah ion H^+ yang dihasilkan dari proses tersebut cukup besar. Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD^+) merupakan jenis koenzim yang dapat ditemukan hampir pada seluruh sel makhluk hidup dan memiliki sifat sebagai pereduksi kuat. NAD^+ berperan dalam reaksi redoks, sebagai pembawa elektron dari satu reaksi ke reaksi lainnya. Koenzim ini dalam sel terdapat dalam dua bentuk, yaitu NAD^+ yang berperan sebagai agen pengoksidasi dan menerima elektron dari molekul lain dan mengalami reduksi membentuk NADH. NADH selanjutnya, dapat berperan sebagai donor elektron

Hingga saat ini mekanisme biosintesis yang terjadi masih merupakan hipotesis yang masih perlu dibuktikan lebih lanjut. Senyawa seperti apa yang sesungguhnya berperan dan mekanisme yang terjadi masih menjadi pertanyaan. Oleh karena itu, masih terbuka peluang untuk mengetahui dan memahami mekanisme yang sebenarnya terjadi saat proses biosintesis karena selain sebagai agen pereduksi air rebusan, ekstrak, ataupun biomassa dari tumbuhan dapat berperan sebagai agen penstabil dari nanopartikel perak yang dihasilkan. Meskipun beberapa peneliti telah menggunakan jenis senyawa metabolit tertentu pada tumbuhan, seperti *geraniol* dari *Pelargonium graveolens* (Geranium) (Safaepour *dkk.* 2009) dan *phyllatin* dari *Phyllanthus amarus* (Meniran) (Kasthuri *dkk.* 2009).

Penggunaan senyawa pilantin yang diisolasi dari tumbuhan *Phyllanthus amarus* pada biosintesis nanopartikel, memperlihatkan pada konsentrasi yang berbeda akan menghasilkan ukuran dan bentuk yang berbeda pada nanopartikel emas ataupun nanopartikel perak (Kasthuri *dkk.* 2009) (lampiran 4). Oleh karena itu, jenis dan kadar senyawa metabolit sekunder yang paling optimum untuk biosintesis menarik untuk terus digali. Hal tersebut akan membuka peluang bioprospek tumbuhan selain untuk obat-obatan, juga dapat digunakan untuk pengembangan di bidang nanosains dan nanoteknologi.



Gambar B.1. Pengelompokan 70 jenis Tumbuhan yang telah digunakan untuk biosintesis NPP berdasarkan Famili.

Selain itu juga terbuka peluang untuk mengelompokkan jenis-jenis tumbuhan yang dapat digunakan untuk biosintesis nanopartikel perak. Penulis berhasil mendata 70 jenis tumbuhan yang telah digunakan untuk biosintesis nanopartikel perak. Kemudian mencoba dikelompokkan berdasarkan kekerabatan di tingkat Famili. Sementara itu, pada penelitian ini digunakan 2 jenis tumbuhan yang memiliki kesamaan genus dengan peneliti sebelumnya, yaitu *Diospyros kaki* (Kesemek) yang telah di gunakan Song *dkk.* (2009) dengan *Diospyros blancoi* (Bisbul) dan *Murraya paniculata* (kemuning) dengan *Murraya koenigii* (Curry tree) yang telah digunakan oleh Philip *dkk.* (2011). Terdapat kemungkinan tumbuhan yang memiliki kekerabatan yang dekat berpotensi untuk dapat digunakan dalam biosintesis NPP.

C. Aplikasi Indikator Kolorimetri untuk Mendeteksi Logam Berat Berbasis Nanopartikel Perak Hasil Biosintesis

Hasil karakterisasi larutan indikator 1 menunjukkan pertambahan nilai absorbansi seiring dengan waktu. Sementara spektrum λ_{maks} berada dikisaran 430 nm. Pencampuran nanopartikel perak hasil biosintesis setelah 24 jam dengan PVA memperlihatkan penurunan nilai absorbansi dan pergeseran panjang gelombang dari dari 426 nm menjadi 431 nm. Sementara pada penambahan L-sisteina tidak terjadi pergeseran panjang gelombang dari kisaran 430 nm, tetapi terdapat kenaikan nilai absorbansi seiring dengan warna larutan indikator yang cenderung menjadi warna cokelat yang lebih gelap. Penempelan ligan dan NPP dilakukan secara mekanis. Selanjutnya gugus thiol dari L-sisteina diharapkan akan saling berikatan dengan nanopartikel logam membentuk ikatan logam-sulfur (Caro *dkk.* 2010).

Hasil pengukuran spektroskopi dari spektrum panjang gelombang setiap larutan indikator dari waktu ke waktu teramati. Pada larutan indikator dengan penambahan PVA pergeseran panjang gelombang berada di kisaran λ_{maks} 425 nm hingga 432 nm. Nilai λ_{maks} juga menunjukkan nilai SPR (*surface plasmon resonance*), pergeseran nilainya dapat menunjukkan perubahan sifat dan ukuran

dari partikel. Ukuran dari NPP dapat dipengaruhi oleh *capping agent* (agen penstabil). Variasi dari nilai λ_{maks} secara tidak langsung menunjukkan kecenderungan perubahan ukuran (Tripathy *dkk.* 2010). Penggunaan air rebusan untuk biosintesis nanopartikel perak selain sebagai pereduksi, juga dapat berperan sebagai penstabil begitupula dengan jenis ligan yang digunakan. Selain itu, perlakuan mekanik yang diberikan juga cenderung turut mempercepat terjadinya reaksi. Larutan dengan pengadukan memiliki nilai absorbansi yang lebih tinggi daripada yang tidak diaduk. Selain itu, proses pendadukan dapat membantu menghomogenkan larutan karena dapat mencegah terjadinya agregasi antarpartikel sehingga NPP yang terbentuk terdispersi merata dalam larutan dalam bentuk koloid.

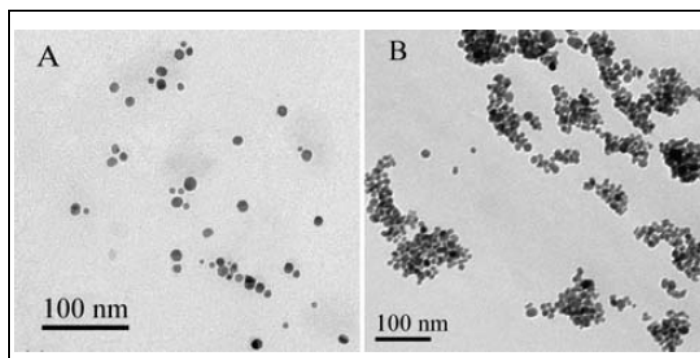
Hasil pengujian larutan indikator 1, 2, 3, dan 4 memperlihatkan perubahan warna larutan yang paling nyata terhadap ion Cu^{2+} pada kadar 1000 ppm. Perubahan warna yang terjadi dalam waktu kurang dari 15 menit. Hasil spektrum UV-Vis juga menunjukkan adanya pergeseran λ_{maks} dari 427 nm menjadi 535 nm. Sementara pada penggunaan larutan indikator 3 terjadi pergeseran puncak, namun puncak yang terbentuk lebih lebar dan perubahan warna yang terjadi lebih nyata daripada larutan indikator 1, 2, dan 4. Pengujian larutan indikator 1 dan indikator 2 pada kadar Cu^{2+} , menghasilkan larutan yang bening dan cenderung merah muda, sedangkan hasil spektroskopi tidak terdeteksi adanya puncak dan terjadi penurunan nilai absorbansi. Sementara larutan indikator 4, membentuk warna merah muda yang lebih jernih.

Hasil spektrum UV-Vis dari pengujian larutan indikator 5 dan 6 menunjukkan adanya pergeseran λ_{maks} dari 415 nm menjadi 464 nm dan pelebaran spektrum absorpsi. Warna larutan juga cenderung berubah menjadi dari kuning kecokelatan menjadi jingga dalam waktu kurang dari 15 menit. Sementara pada pengujian larutan indikator 1, 2, 3, 4, dan 5 terhadap keberadaan ion Hg^{2+} menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda. Pengujian ion Hg^{2+} pada kadar 100 dan 1000 ppm menunjukkan adanya perubahan warna larutan menjadi jingga dan bening. Hasil spektrum UV-Vis menunjukkan pada kedua kadar tersebut puncak

gelombang menghilang dengan grafik yang melebar dan nilai absorpsi menurun. Seluruh larutan yang diujikan memiliki pH dikisaran 4—5.

Prinsip detektor kolorimetrik bergantung pada perubahan SPR (*surface plasmon resonance*) dan agregasi antarpartikel indikator dengan analit yang juga dikenal sebagai sensor agregasi. Peningkatan medan listrik pada permukaan nanopartikel dapat mengakibatkan nanopartikel saling beragregasi. Umumnya, agar nanopartikel perak tidak saling mengalami agregasi, maka dilakukan penambahan anion, seperti Cl^- , $(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{COO})_3^{3-})$, atau polimer, seperti PVA (polivinil alkohol), PVP (polivinil pirolidon). Anion-anion tersebut akan diabsorpsi pada permukaan nanopartikel logam. Saat nanopartikel perak mengalami agregasi, nilai LSPR akan bergeser ke arah panjang gelombang merah dan melebar (Caro *dkk.* 2010, Chai *dkk.* 2010).

Chai *dkk.* (2010) telah menggunakan nanopartikel emas yang dimodifikasi (fungsionalisasi) dengan asam amino L-sisteina. L-sisteina berperan dalam mengikat logam sehingga membentuk ikatan logam-ligan. Hasil pencampuran larutan nanopartikel emas yang dimodifikasi tersebut menghasilkan warna merah, kemudian sesudah ditambahkan $10 \mu\text{M Hg}^{2+}$ larutan berubah warna menjadi biru. Sementara pada penambahan larutan Hg^{2+} 0,1—10 μM tidak terjadi agregasi sehingga tidak terjadi perubahan warna, lalu dilakukan penyinaran dengan sinar UV. Penyinaran dengan UV mampu mempercepat laju reaksi dan memicu agregasi antarpartikel. Sementara itu, penggunaan polimer jenis PVA sebagai agen penstabil nanopartikel perak telah dilakukan oleh Mbhele *dkk.* 2003. Polimer merupakan salah satu material yang baik untuk mengikat logam, karena memiliki sifat optik dan elektriknya yang unik. PVA bersifat netral sehingga mampu menstabilkan partikel (Patakvalfi *dkk.* 2004). Bagaimana terjadinya agregasi antarnanopartikel, dapat dilihat pada Gambar C.1. Terlihat saat terjadi agregasi NPP akan saling berkumpul membentuk agregat.



Gambar C.1. Hasil TEM kondisi nanopartikel perak sebelum terjadi agregasi (A) dan setelah terjadinya agregasi (B) [Sumber: Han & Li 2010].

Menurut Tripathy *dkk.* (2010), nanopartikel logam yang terbentuk dalam larutan perlu untuk distabilkan dengan mencegah terjadinya antarmolekul yang dapat menyebabkan koagulasi (pengumpulan) akibat adanya gaya Van der Waals. Stabilisasi nanopartikel logam tersebut dapat dilakukan dengan pemberian surfaktan atau polimer yang akan menciptakan penghalang elektrostatik atau mengelilingi permukaan partikel. Sintesis nanopartikel perak dengan metode biosintesis diduga akan meninggalkan senyawa bioorganik yang berperan sebagai *capping agent* di sekeliling nanopartikel yang berfungsi sebagai penstabil.

Hasil penelitian yang dilakukan Li *dkk.* (2009) menunjukkan, bahwa pada konsentrasi analit maupun pencampuran indikator memengaruhi sensitivitas dan perubahan warna. Selain itu, dibutuhkan beberapa perlakuan tambahan seperti penambahan garam atau penyinaran dengan sinar UV untuk memicu terjadinya agregasi antarpartikel. Pada penelitian ini, sensitivitas larutan indikator mampu mendeteksi pada kadar ion logam Cu^{2+} dan Zn^{2+} 1000 ppm. Oleh karena itu, diperlukan modifikasi lebih lanjut agar berhasil diperoleh detektor kolorimteri yang mampu mendeteksi keberadaan kontaminan logam berat yang lebih selektif dan sensitif pada kadar yang lebih kecil.

RANGKUMAN KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

1. Hasil biosintesis menunjukkan dari 7 jenis tumbuhan yang digunakan (Kemuning, Bintaro, Dilenia, Bisbul, Matoa, Pegagan, Mimba) diperoleh puncak dikisaran λ_{maks} 400--450 nm yang merupakan nilai SPR dari nanopartikel perak.
2. Kecepatan dan jumlah NPP yang dihasilkan berdasarkan nilai absorbansinya dari yang terendah hingga tertinggi, yaitu Kemuning, Bintaro, Dilenia, Pegagan, Mimba, Bisbul saat 24 jam.
3. Rasio volume air rebusan dan AgNO_3 , serta penggunaan daun dalam kondisi segar ataupun kering memengaruhi kecepatan, ukuran, dan kestabilan. Perbandingan yang cenderung optimal berada dikisaran rasio 1:10 dan 1:20.
4. Penggunaan air rebusan dari daun kering Bisbul cenderung lebih baik terkait dengan tingkat kestabilan dan dispersi dari NPP yang dihasilkan.
5. NPP yang dihasilkan memiliki diperkirakan memiliki ukuran antara 50—80 nm.
6. NPP hasil biosintesis memiliki potensi untuk diaplikasikan sebagai indikator kolorimetri untuk mendeteksi keberadaan logam berat.
7. Jenis, waktu pencampuran, dan konsentrasi ligan saat pembuatan indikator memengaruhi sensitivitas dan selektivitas dari indikator terhadap analit.
8. PVA dan L-sisteina dapat digunakan sebagai ligan. PVA selektif terhadap keberadaan Cu^{2+} sedangkan L-sisteina selektif terhadap keberadaan Zn^{2+} .

B. SARAN

Penelitian ini masih memerlukan telaah lebih lanjut dan mendalam terkait dengan beberapa hal berikut.

1. Senyawa dari tumbuhan yang berperan dalam proses reduksi ion Ag^+ hingga membentuk nanopartikel perak < 100 nm perlu dikaji lebih lanjut. Hal tersebut dapat dilakukan dengan ekstraksi senyawa-senyawa bioaktif dari tumbuhan hingga dapat diperoleh jenis senyawa serta jumlah yang paling optimum untuk proses biosintesis.
2. Kemudian perlu diketahui ialah apakah pendekatan taksonomi dapat digunakan untuk menentukan jenis tumbuhan yang dapat digunakan untuk menyintesis NPP. Hal tersebut berhubungan dengan penentuan jenis tumbuhan lainnya yang berpotensi untuk proses biosintesis nanopartikel perak.
3. Karakterisasi nanopartikel perak hasil biosintesis juga perlu dilakukan untuk mengetahui ukuran dan distribusi ukuran nanopartikel perak yang dihasilkan. Hal tersebut diperlukan untuk memastikan apakah setiap jenis tumbuhan akan menghasilkan morfologi serta ukuran NPP yang spesifik. Karakterisasi morfologi dan ukuran dapat dilakukan menggunakan *Transmission Electron Microscope (TEM)*.
4. Lebih lanjut, perlu diketahui senyawa ataupun parameter proses lainnya seperti pH, proses pemanasan, dan perlakuan mekanik sehingga dapat diperoleh standar proses biosintesis NPP yang lebih baik dan optimal.
5. Modifikasi NPP sebagai larutan NPP masih dapat dilakukan dengan berbagai variasi modifikasi baik dari mekanisme penempelan ligan, perbandingan konsentrasi serta volume ligan. Dengan demikian, diharapkan akan diperoleh larutan indikator yang lebih sensitif dan akurat terhadap analit (logam berat) dengan kadar yang lebih rendah. Jenis ligan lainnya juga berpotensi untuk digunakan ialah kitosan atau glutathione.
6. Potensi aplikasi untuk pemanfaatan di bidang lainnya, seperti biomedis (antibiotik, sensor immunoassay), pertanian (pendeteksi insektisida), dan pangan.

DAFTAR ACUAN

- Ahmad, A., S. Senapati, M.I. Khan, R. Kumar & M. Sastry. 2003. Extracellular biosynthesis of monodisperse gold nanoparticles by a novel extremophilic Actinomycetes, *Thermomonospora* sp. *Langmuir* **19**: 3550—3553.
- Ahmad, N., S. Sharma, V.N.Singh, S.F. Shamsi, A. Fatma, & B.R. Mehta. 2011. Biosynthesis of Silver Nanoparticles from *Desmodium triflorum*: A Novel Approach Towards Weed Utilization. *Biotechnology Research International*: 1—8.
- Bar, H., D. Kr Bhui, G.P. Sahoo, P. Sarkar, S. P. De & A. Misra. 2009. Green synthesis of silver nanoparticles using latex of *Jatropha curcas*. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **339**: 134—139.
- Bradl, H.B. 2005. Source and Origins of Heavy Metals. *Dalam*: Bardl, H.B. (ed.). 2005. *Heavy metals in the environment vol. 6*. Elsevier, Boston: 1—27.
- Caro, C., P.M. Castillo, R. Klippstein, D. Pozo, & A. P. Zaderenko. 2010. Silver nanoparticles: sensing and imaging application. *Dalam*: Perez, D.P. (ed). 2010. *Silver nanoparticles*. Intech, India: 210—223.
- Fang Chai, Chungang Wang, Tingting Wang, Zhanfang Ma & Zhongmin Su. 2010. L-cysteine functionalized gold nanoparticles for the colorimetric detection of Hg^{2+} induced by ultraviolet light. *Nanotechnology* **21**: 1—6.
- Chandran, S.P., M. Chaundhary, R. Pasricha, A. Ahmad & M. Sastry. 2006. Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using *Aloe vera* plant extract. *Biotechnology Progress* **22**: 577—583.
- Das, R.K., B.B. Borthakur & U. Bora. 2010. Green synthesis of gold nanoparticles using ethanolic leaf extract of *Centella asiatica*. *Materials Letters* **64**: 1445—1447.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia (=Depkes). 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi ke-4. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta: xxv + 1031 hlm.

- Dubey, M., S. Bhadauria & B.S. Kushwah. 2009. Green synthesis of nanosilver particles from extract of *Eucalyptus hybrid* (Safeda) leaf. *Journal of nanomaterials and Biostructures* **4**(3): 537—543.
- Durán, N., Marcato, P.D., Durán, M., Yadav, A. Gade, A. & M. Rai. 2011. Mechanistic aspects in the biogenic synthesis of extracellular metal nanoparticles by peptides, bacteria, fungi, and plants. *Applied Microbiology and Biotechnology*: 1—16.
- Evangelou, V.P. 1998. *Environmental soil and water chemistry: Principles and application*. John Willey & Sons, Inc., New York: xix + 564 hlm.
- Gardea-Torresdey J. L., E. Gomez, J. R. Peralta-Videa, J.G. Parsons, H. Troiani & M. Jose-Yacaman. 2003. Alfalfa Sprouts: A Natural Source for the Synthesis of Silver Nanoparticles. *Langmuir*: 1357—1361.
- Han, C. & H. Li, 2010. Visual detection of melamine in infant formula at 0,1 ppm level based on silver nanoparticles. *Analyst* **135**: 583—588.
- Harbourne, J.B. 1984. Metode fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Ed. Ke-2. Terj. dari *Phytochemical Methods* oleh Padmawinata, K. & I. Soediro. Penerbit ITB, Bandung: 10a + 364 hlm.
- Haverkamp, R.G. & A.T. Marshall. 2009. The mechanism of metal nanoparticle formation in plants: limits on accumulation. *Journal of Nanoparticle Research* **11**:1453–1463.
- Huang, Chih-Ching & Chang, Huan-Tsung. 2006. Selective gold-nanoparticle-based “Turn on” fluorescent sensor for detection of mercury(II) in aqueous solution. *Analysis Chemistry* **78**: 8332—8338.
- Jain, D., H.K. Daima, S. Kachhwaha & S.L. Kothari. 2009. Synthesis of plant mediated silver nanoparticles using papaya fruit extract and evaluation of their anti microbial activities. *Digest Journal of Nanomaterial and Biostructures* **4**(3): 557—563.
- Jha, A.K. & K. Prasad. 2010. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Cycas Leaf. *International Journal of Green Nanotechnology: Physics and Chemistry* **1**: 110—117.

- Jha, A.K., K. Prasad, L. Prasad & A.R. Kulkarni. 2009. Plant system: Nature's nanofactory. *Colloids and Surface B: Biointerfaces* **73**: 219—223.
- Kasthuri, J., K. Kathiravan, & N. Rajendiran. 2009. Phyllanthin-assisted biosynthesis of silver and gold nanoparticles: a novel biological approach. *Journal Nanoparticle Research* **11**(5):1075—1085.
- Kholoud, M.M.A.El-Nour, A. Eftaiha, A. Al-Wathan., R.A.A. Ammar. 2010. Synthesis and application of silver nanoparticles. *Arabian Journal of Chemistry* **3**: 135—140.
- Kumar, V. & S. K. Yadav. 2009. Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. *Journal Chemical Technology and Biotechnology* **84**:151—157.
- Kumar, V., Yadav, S.C. Yadav, S.K. 2010. *Syzygium cumini* leaf and seed extract mediated biosynthesis of silver nanoparticles and their characterization. *Journal Chemistry Technology and Biotechnology*: 1—9.
- Kvesitadze, G., G. Khatishashvili, T.Sadunishvili & J.J. Ramsden. 2006. *Biochemical mechanisms of detoxification in higher plants: Basis of phytoremediation*. Springer, New York: viii + 262 hlm.
- Leela, A. & M. Vivekananda. 2008. Tapping the unexploited plant resources for the synthesis of silver nanoparticles. *African Journal of Biotechnology* **7**(17): 3162—3165.
- Lengke, M.F., M.E. Fleet & G. Southam. 2007. Biosynthesis of silver nanoparticles by filamentous cyanobacteria from a silver(I) nitrate complex. *Langmuir* **23**: 2694—2699.
- Li, L., Li, B., Qi Y. & J. Yan. 2009. Label-free aptamer-based colorimetric detection of mercury ion in aqueous media using unmodified gold nanoparticles as colorimetric probe. *Analysis Bioanalysis Chemistry* **393**: 2051—2057.
- Li, S., Yuhua Shen, Anjian Xie, Xuerong Yu, Lingguang Qiu, Li Zhang & Qingfeng Zhang. 2007. Green synthesis of silver nanoparticles using *Capsicum annuum* L. extract. *Green Chemistry* **9**: 852—858.

- Mohanpuria, P., N.K. Rana, & S.K. Yadav. 2008. Biosynthesis of nanoparticles: technological concept and future application. *Journal Nanoparticles Research* **10**: 507—517.
- Nagarajan, R. 2008. Nanoparticles: Building blocks for nanotechnology. *Dalam*: Nagarajan, R. & T. A. Hatton (Eds.). 2008. *Nanoparticles: synthesis, stabilization, passivation, and functionalization*. American Chemical Society, Washington: 1—14.
- Parsons, J.G., J.R. Peralta-Videa & J.L. Gardea-Torresdey. 2007. Use of plant in biotechnology: Synthesis of metal nanoparticles by inactive plant tissues, plant extract, and living plants. *Dalam*: Sarkar, D., R. Datta & R. Hannigan (Eds.). 2007. *Developmental in environmental sciences Volume 5: Concepts and application in environmental geochemistry*. Elsevier, Oxford: 463—481.
- Philip, D., C. Unni, S.S. Aromal, & V.K. Vidhu. 2011. *Murraya keonigii* leaf-assisted rapid green synthesis of silver and gold nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **78**: 899—904.
- Poole Jr., C.P. & F.J. Owens. 2003. *Introduction to nanotechnology*. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey : xii + 388 hlm.
- Roco, M.C. 2003. Nanotechnology: convergence with modern biology and medicine. *Current Opinion in Biotechnology* **14**: 337—348.
- Saxena, S.K. 2004. Polyvinyl alcohol (PVA) Chemical and Technical Assessment (CTA). 61st JECFA, FAO: 1—3.
- Shankar, S.S., A. Rai, A. Ahmad & M. Sastry. 2004. Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *Journal of Colloid and Interface Science* **275**(4): 496—502.
- Solomon, S.D., M. Bahadory, A.V. Jeyarajasingam, S.A. Rutkowsky, C. Boritz & L. Mulfinger. 2007. Synthesis and study of silver nanoparticles. *Journal of Chemical Education* **84**(2): 322—325.

- Song, J.Y. & B.S. Kim. 2009. Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. *Bioprocess Biosyst. Eng.* **32**: 72—89.
- Tarigan, Z. Edwar & A. Rozak. 2003. Kandungan logam berat Pb, Cd, Cu, Zn, dan Ni dalam air laut dan sedimen di muara Sungai Membramo, Papua dalam kaitannya dengan kepentingan budidaya perikanan. *Makara Sains* **7**(3): 119—127.
- Theodore, L. & R.G. Kunz. 2005. *Nanotechnology: Environmental implication and solution*. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey: xvi + 378 hlm.
- Thomas, J. 2006. An introduction to nanotechnology: The next small big thing. *Development* **49**(4): 39—44.
- Tolaymat, T.M, A. El Badawy, A. Genaidy & K.G. Scheckel. 2010. An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in syntheses and applications: A systematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers. *Sciences of the Total Environment* **408**: 999—1006.
- Wang, Y., F. Yang & X. Yang. 2010a. Colorimetric detection of mercury(II) ion using unmodified silver nanoparticles and mercury-specific oligonucleotides. *Applied Material and Interfaces* **2**(2): 339—342.
- Wang, C., M. Luconi, A. Masi, & L. Fernandez. 2010b. Silver nanoparticle as optical sensors. *Dalam: Perez, D.P. (ed). 2010. Silver nanoparticles*. Intech, India: 225—256.
- Yokoyama, T. 2007. Basic Properties and measuring method of nanoparticles: 1.1. Size effect and properties of nanoparticles. *Dalam: Hosokawa M., K. Nogi, M. Naito & T. Yokozama (Eds.). 2007. Nanoparticles technology handbook*. Elsevier, Tokyo: 1—10.

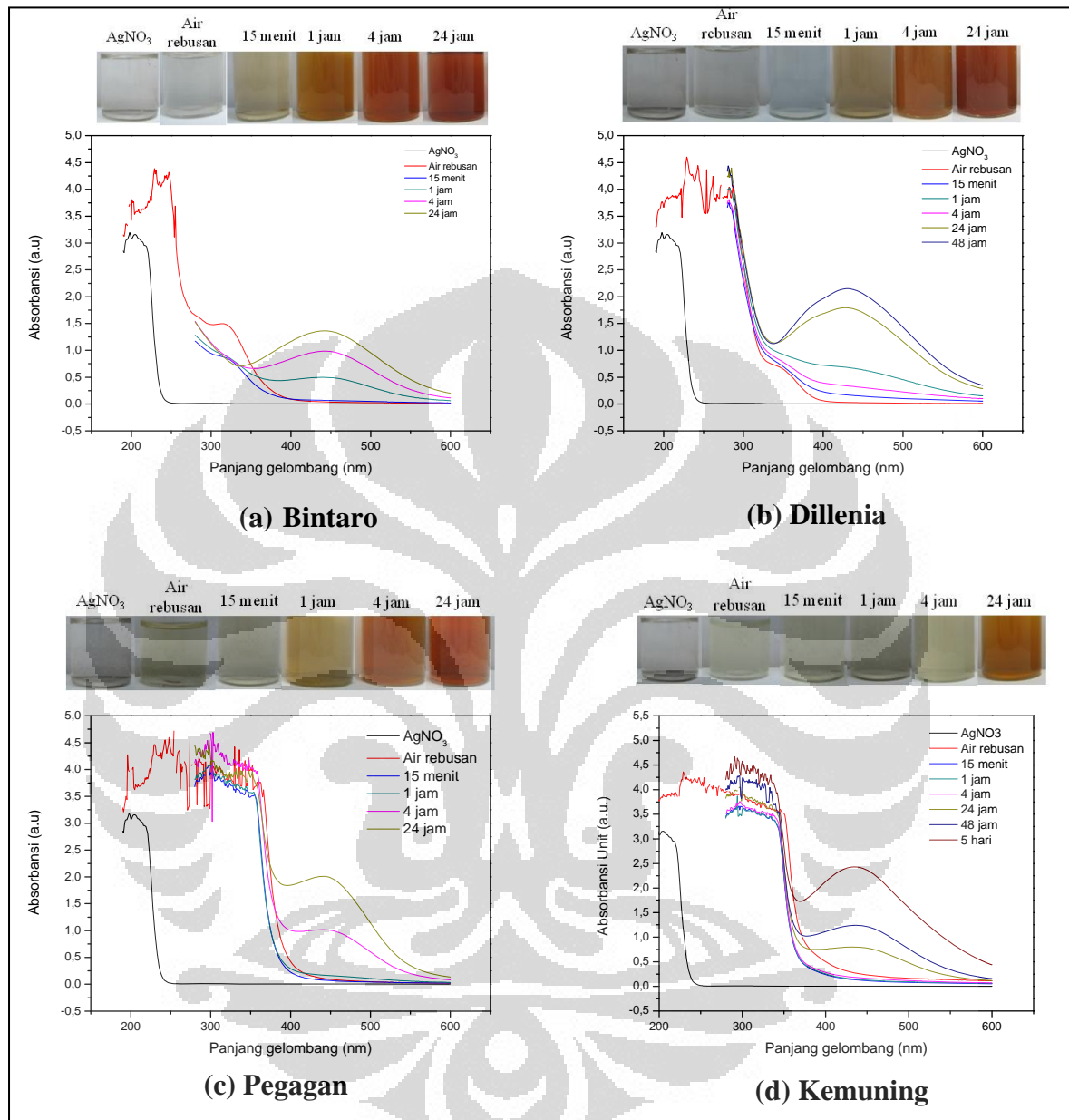
Lampiran 1. Daftar jenis tumbuhan yang telah digunakan untuk biosintesis nanopartikel perak.

NO	SPESES	FAMILI	PENGGUNAAN TUMBUHAN	REFERENSI
1	<i>Medicago sativa (alfafa)</i>	Fabaceae	Prekursor di tambahkan ke dalam media (In vitro)	Gardea-Torresdey J. L., Eduardo Gomez, Jose R. Peralta-Videa, Jason G. Parsons, Horacio Troiani, and Miguel Jose-Yacamán. 2003. <i>Langmuir</i> : 1357-1361.
2	<i>Pelargonium graveolens</i>	Geraniaceae	Air rebusan daun	Shankar, S.S., A. Ahmad & M. Sastry. 2003. <i>Biotechnol. Prog.</i> 19: 1627—1631.
3	<i>Azadirachta indica</i>	Meliaceae	Air rebusan daun	Shankar, S.S., A. Rai, A. Ahmad & M. Sastry. 2004. <i>Journal of Colloid and Interface Science</i> 275: 4: 496—502.
4	<i>Emblica officinalis</i>	Euphobiaceae	Ekstrak rebusan daun	Ankamwar, B. Damle, C., Ahmad, A. & M. Sastry. 2005. <i>Journal of Nanoscience and Nanotechnology</i> 5: 1665--1671.
5	<i>Quercus virginiana</i>	Fagaceae	Ekstrak	Cassandra Dyal. The 231st ACS National Meeting, Atlanta, GA, March 26-30, 2006
6	<i>Magnolia grandiflora</i>	Magnoliaceae		
7	<i>Pueraria lobata</i>	Fabaceae		
8	<i>Pinus taeda</i>	Pinaceae		
9	<i>Aloe vera</i>	Asphodelaceae	Air rebusan daun	Chandran, S.P., M. Chaundhary, R. Pasricha, A. Ahmad & M. Sastry. 2006. <i>Biotechnology Progress</i> 22: 577—583.
10	<i>Capsicum annuum</i>	Solanaceae	Jus dari bagian buah lalu di sentrifugasi	Li Shikuo, Yuhua Shen, Anjian Xie, Xuerong Yu, Linguang Qiu, Li Zhang & Qingfeng Zhang. 2007. Green synthesis of silver nanoparticles using <i>Capsicum annuum</i> L. extract. <i>Green Chemistry</i> 9: 852—858.
11	<i>Cinnamomum camphora</i>	Lauraceae	Biomassa daun kering	Huang, J. Lin, L., Li, Q., Sun D., Wang, Y., Lu, Y., He, N., Yang, K., Yang, X., Wang, H., Wang, W. & W. Lin. 2008. <i>Ind. Eng. Chem. Res.</i> 47: 6081–6090.
12	<i>Helianthus annuus</i>	Asteraceae	Air rebusan daun	Leela, A. & M. Vivekananda. 2008. <i>Journal of Biotechnology</i> 7(17): 3162—3165.
13	<i>Basella alba</i>	Bassellabaceae		
14	<i>Oryza sativa</i>	Poaceae		
15	<i>Saccharum officinalum</i>	Poaceae		
16	<i>Sorghum bicolor</i>	Poaceae		
17	<i>Zea mays</i>	Poaceae		
18	<i>Eucalyptus hybrida</i>	Myrtaceae	ekstrak alkohol	Dubey, M., S. Bhaduria & B.S. Kushwah. 2009. Green synthesis of nanosilver particles from extract of <i>Eucalyptus hybrid</i> (Safeda) leaf. <i>Journal of nanomaterials and Biostructure</i> 4(3): 537—543.
19	<i>Acalypha indica</i>	Euphorbiaceae	Air rebusan daun	Krishnaraj, C., Jagan, E.G., Rajasekar, S., Selvakumar, P., Kalaichelvan, & N. Mohan. 2009. <i>S Colloids and Surfaces B: Biointerfaces</i> 76:50–56
20	<i>Datura metel (kecubung)</i>	Solanaceae	Air rebusan daun	Kesharwani, J., Ki Young Yoon, Jungho Hwang, & M. Rai. 2009 <i>Journal of bionanoscience</i> 3: 1—6.
21	<i>Carica papaya (fruit extract)</i>	Caricaceae	Buah yang dihancurkan	Jain, D., H.K. Daima, S. 2009. Kachhwaha & S.L. <i>Digest Journal of Nanomaterial and Biostructures</i> 4(3): 557—563.
22	<i>Mentha Piperita</i>	Lamiaceae	Air rebusan	Parashar, U.K., Saxeena, P.S. & A. Srivastava. 2009. <i>Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures</i> 4 (1): 159 - 166

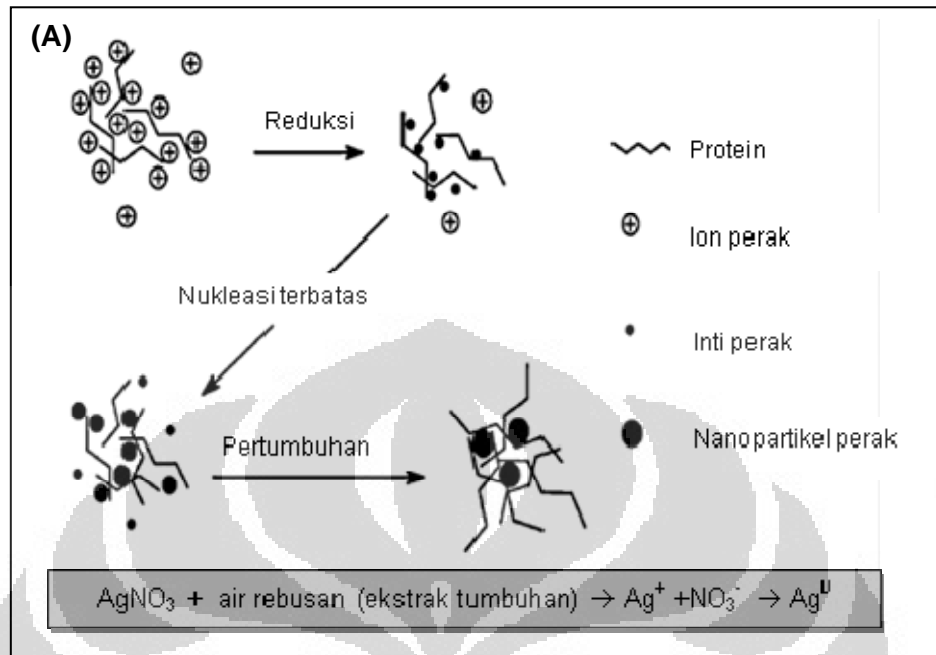
23	<i>Camellia sinensis</i>	Theaceae	Daun diaduk dalam air deionisasi	Nune, S.K., Chanda, N., Shukla, R., Katti, K., Kulkarni, R. R., Thilakavathy, S., Mekapothula, S., Kannan, R. & K.V. Katti. 2009. Journal of Materials Chemistry 19 : 2912–2920.
24	<i>Lawsonia inermis</i>	Lythraceae	Ekstrak methanol → senyawa apiin	Kasthuri, J., Veerapandian, S. & N. Rajendiran. 2009. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 68 : 55–60.
25	<i>Brassica juncea</i>	Brassicaceae	Sistem hidrofoniik	Haverkamp, R.G. & Mashall, A.T. 2009. J Nanopart Res 11:1453–1463.
26	<i>Jatropha curcas</i>	Euphorbiaceae	lateks (getah)	Bar, H., D. Kr Bhui, G.P. Sahoo, P. Sarkar, S. P.De & A. Misra. 2009. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 339: 134–139.
27	<i>Diopyros kaki</i>	Ebenaceae	Ekstrak daun	Song, J.Y. & Kim, B.S. 2009. Bioprocess Biosyst. Eng. 32: 72-89.
28	<i>Ginkgo biloba</i>	Ginkgoaceae		
29	<i>Platanus orientalis</i>	Platanaceae		
30	<i>Magnolia kobus</i>	Magnoliaceae		
31	<i>Gliricidia sepium</i>	Fabaceae	Air rebusan daun	Raut Rajesh W., Lakkakula Jaya R., Kolekar Niranjan S., Mendhulkar Vijay D. & Kashid Sahebrao B. 2009. Current Nanoscience 5 : 117-122
32	<i>Bryophyllum sp.</i>	Crassulaceae	ekstrak etanol 40 ml ekstrak+20 ml AgNO ₃ 0,025M	Jha, A.K., K. Prasad, L. Prasad & A.R. Kulkarni. 2009. Colloids and Surface B: Biointerfaces 73: 219–223.
33	<i>Cyprus sp.</i>	Cupressaceae		
34	<i>Hydrilla sp.</i>	Hydrocharitaceae		
35	<i>Parthenium hysterophorus</i>	Asteraceae	Air rebusan daun	Parashar, V., Parashar, R., Sharma, B. & A.C. Pandey. 2009. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures 4 (1): 45 - 50.
36	<i>Pyrus</i>	Rosaceae	Buah yang telah dikupas diblender	Ghodake, G.S., Deshpande, N.G., Lee, Y.P. & E.S. Jin. 2009. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 75 : 584–589
37	<i>Phyllanthus amarus (phylantin)</i>	Euphorbiaceae	Menggunakan ekstrak senyawa phyllantin	Kasthuri, J., Kathiravan, K. & N. Rajendiran. 2009. J Nanopart Res 11:1075–1085
38	<i>Ocimum basilicum</i>	Lamiaceae	Daun dipanaskan (steam bath) dengan airdeionisasi	Ahmad, N., Sharma, S. Alam, Md. K., Singh, V.N., Shamsi, S.F., Mehta., B.R. & A. Fatma. 2010. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 81: 81–86
39	<i>Sesuvium portulacastrum</i>	Aizoaceae	Dari kalus →dihancurkan → direbus → sentrifugasi	Nabikhan, A., Kandasamy, K., Araj, A. & N.M. Alikum. 2010. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 79 : 488–493
40	<i>Cycas</i>	Cycadaceae	ekstrak etanol	Jha, A.K. & K. Prasad. 2010. Journal of Green Nanotechnology: Physics and Chemistry 1: 110-117.
41	<i>Hibiscus rosa sinensis</i>	Malvaceae	Gerusan daun	Philip, D. 2010. Physica E 42 : 1417–1424.
42	<i>Syzygium cumini</i>	Myrtaceae	Ekstrak daun dan biji	Kumar, V., Yadav, S.C. Yadav, S.K. 2010. Journal Chemistry Technology and Biotechnology. 1–9.
43	<i>Musa sp (banana peel)</i>	Musaceae	Ekstrak gerisan kulit buah dengan aseton	Bankar, A., Joshi, B., Kumar, A.R. & S. Zinjarde. 2010. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 368 : 58–63
44	<i>Sorbus aucuparia</i>	Rosaceae	Air rebusan daun	Dubey, S.P., Lahtinen, M., Sarkka, H. & M. Sillanpaa. 2010. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 80 : 26–33.
45	<i>Chenopodium album</i>	Amaranthaceae	Air rebusan	Dwivedi, A. D. & K. Gopal. 2010. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 369: 27–33.
46	<i>Coriandrum Sativum</i>	Apiaceae	Air rebusan	Sathyavathi, R., Krishna, M.B., Rao, S. V., Saritha, R. & D.N. Rao. 2010. Advanced Science Letters 3 : 1–6.

47	<i>Garcinia mangostana</i>	Clusiaceae	Air rebusan daun	Veerasamy, R., Xin, T.Z., Gunasagaran, S., Xiang, T.F.W., Yang, E.F.C., Jayakumar, N., & Dhanaraj, S.A. 2010. <i>Journal of Saudi Chemical Society</i> xxx, xxx-xxx.
48	<i>Rosa rugosa</i>	Rosaceae	Air rebusan	Dubey, S.P., Lahtinen, M. & M. Sillanpaa. 2010. <i>Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects</i> 364 : 34-41
49	<i>Ipomoea aquatica</i>	Convolvulaceae	Air rebusan	Roy, N. & A. Barik. 2010. <i>International Journal of Nanotechnology and Applications</i> 4 (2): 95-101 .
50	<i>Enhydra fluctuans</i>	Asteraceae		
51	<i>Ludwigia adscendens</i>	Onagraceae		
52	<i>Cochlospermum gossypium</i>	Bixaceae	Gum (getah) yang telah dikeringkan	Kora, A.J., Sashidar, R.B. & J. Arunachalam. 2010. <i>Carbohydrate Polymers</i> 82 : 670-679.
53	<i>Curcuma longa</i>	Zingiberaceae	Rimpang dikeringkan menjadi bentuk serbuk disaring dengan mesh lalu direbus dengan air.	Sathishkumar, M., Sneha, K., & Yeoung-Sang Yun. 2010. <i>Bioresource Technology</i> 101 : 7958-7965.
54	<i>Tridax procumbens</i>	Asteraceae	Air rebusan dari daun yg telah dikeringkan	Rajasekharreddy, P., Rani, P.U. & B. Sreedhar. 2010. <i>J Nanopart Res</i> 12:1711-1721
55	<i>Calotropis gigantea</i>	Apocynaceae		
56	<i>Solanum melongena</i>	Solanaceae		
57	<i>Citrus aurantium</i>	Rutaceae		
58	<i>Pinus desiflora</i>	Pinaceae		
59	<i>Dianthus caryophyllus</i>	Caryophyllaceae	in vitro	Gutierrez-Miceli, F.A., Arias, L., Juarez-Rodriguez, N., Abud-Archila, M., Amaro-Reyes, A. & L. Dendooven. 2010. <i>In Vitro Cell.Dev.Biol.—Plant</i> 46 :57-63.
60	<i>Mangifera indica</i>	Anacardiaceae	Potongan daun diaduk di air deionisasi	Philip, D. 2011. <i>Spectrochimica Acta Part A</i> 78: 327-331.
61	<i>Coleus amboinicus</i>	Lamiaceae	Ekstrak daun	Narayanan, K.B. & N. Sakthivel. 2011. <i>Materials Research Bulletin</i> .
62	<i>Ocimum sanctum</i>	Lamiaceae	Potongan daun diaduk di air deionisasi	Philip,D. & C. Unni. 2011. Extracellular biosynthesis of gold and silver nanoparticles using Krishna tulsi (<i>Ocimum sanctum</i>) leaf. <i>Physica E</i> .
63	<i>Murraya keonigii</i>	Rutaceae	Daun dipotong-potong lalu diaduk dalam air deionisasi.	Philip, D, Unni, C. Sswathy Aromal, S. & V.K. Vidhu. 2011. <i>Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy</i> 78: 899-904.
64	<i>Citrus limon</i>	Rutaceae	Jus dari buah (perasan buah)	Prathna,T.C., Chandrasekaran, N. Raichur, A.M. & A. Mukherjee. 2011. Biomimetic synthesis of Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 82 :152-159.
65	<i>Desmodium triflorum</i>	Fabaceae	Ekstrak daun	Ahmad, N., Sharma, S., Singh, V.N., Shamsi, S.F., Fatma, A. & B.R. Mehta. 2011. <i>Biotechnology Research International</i> : 1-8

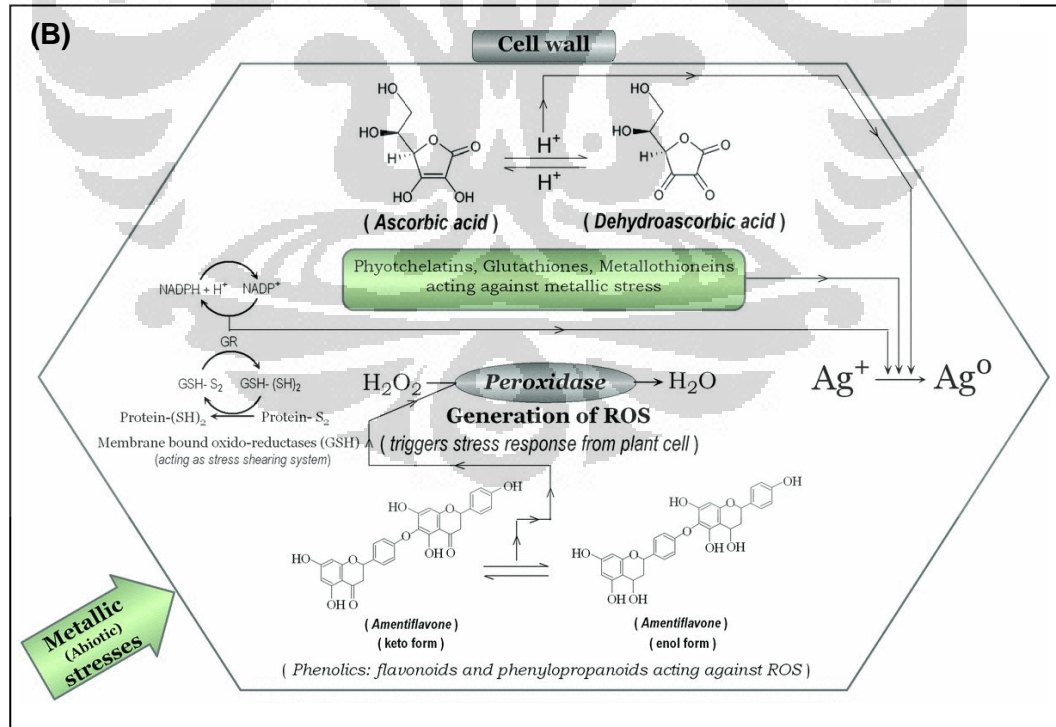
Lampiran 2. Hasil spektrofotometer UV-Vis AgNO₃ dan Air rebusan daun pada rasio 45:5 (v:v).



Lampiran 3. Mekanisme reduksi ion Ag^+ pada sintesis nanopartikel perak (A) dan proses reduksi oleh ion Ag^+ dalam sel tumbuhan (B).

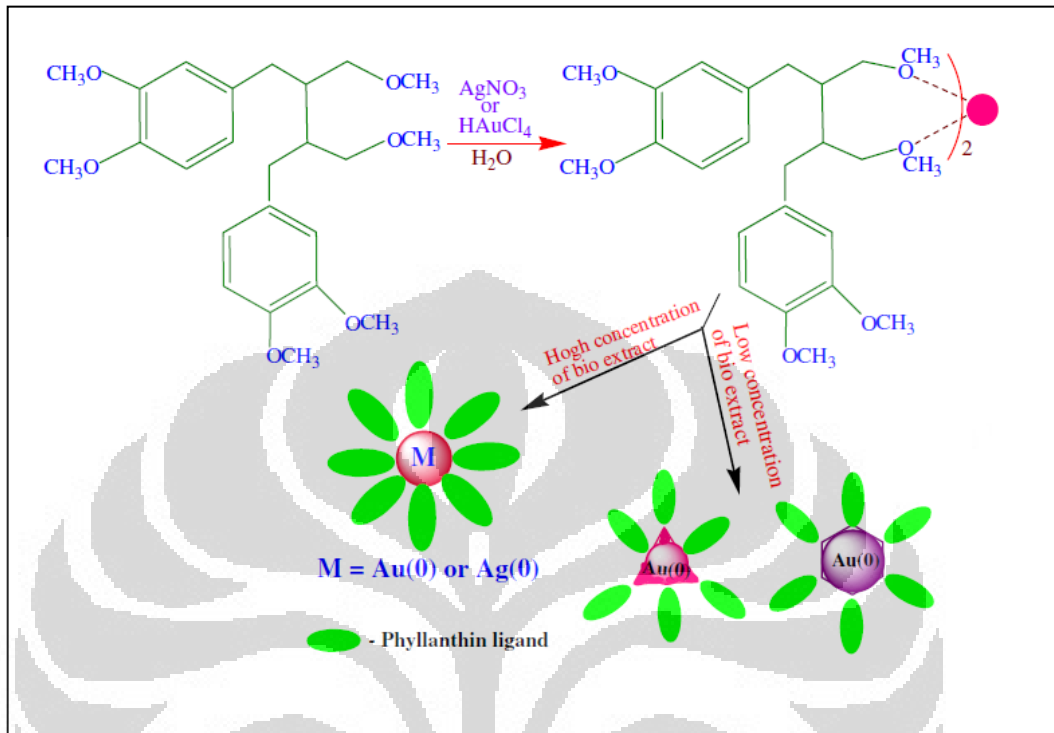


[Sumber: Durán *dkk.* 2011]



[Sumber: Jha & Parsad 2010]

Lampiran 4. Mekanisme reduksi oleh senyawa piltantin dari tanaman *Phyllanthus amarus*



[Sumber: Kasthuri *dkk.* 2009]

Lampiran 5. Pembuatan stok analit

Stok analit dibuat dengan cara membuat larutan stok HgCl_2 , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ dengan konsentrasi ion Hg^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , dan Pb^{2+} sebesar 4000 ppm. Perhitungan dilakukan dengan rumus:

$$\text{ppm } X^{2+} = \frac{\text{Ar } X}{\text{Mr } XY} \times \text{ppm } XY$$

Keterangan:

ppm X^{2+}	= konsentrasi ion logam dalam larutan
ppm XY	= konsentrasi senyawa
Ar X	= massa atom relatif
Mr XY	= massa molekul relatif

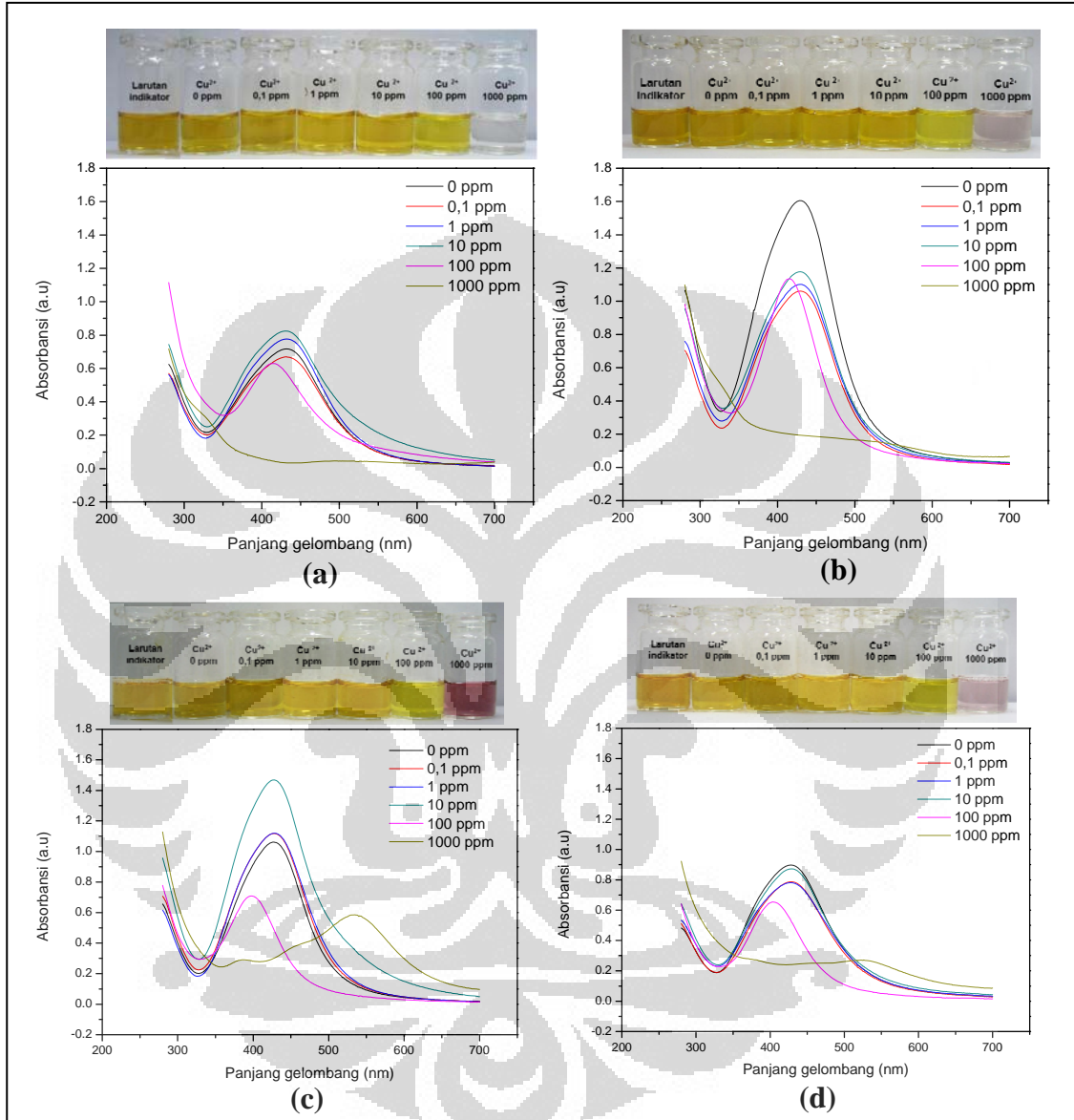
Dengan menggunakan rumus tersebut maka untuk membuat Hg^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , dan Pb^{2+} sebesar 4000 ppm masing-masing ditimbang sebanyak 2,71; 9,951; 5,365; dan 3,19 untuk dilarutkan dalam 500 mL. Untuk pembuatan analit 0; 0,1; 1, 10, 100, 1000 ppm dihitung dengan menggunakan rumus:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

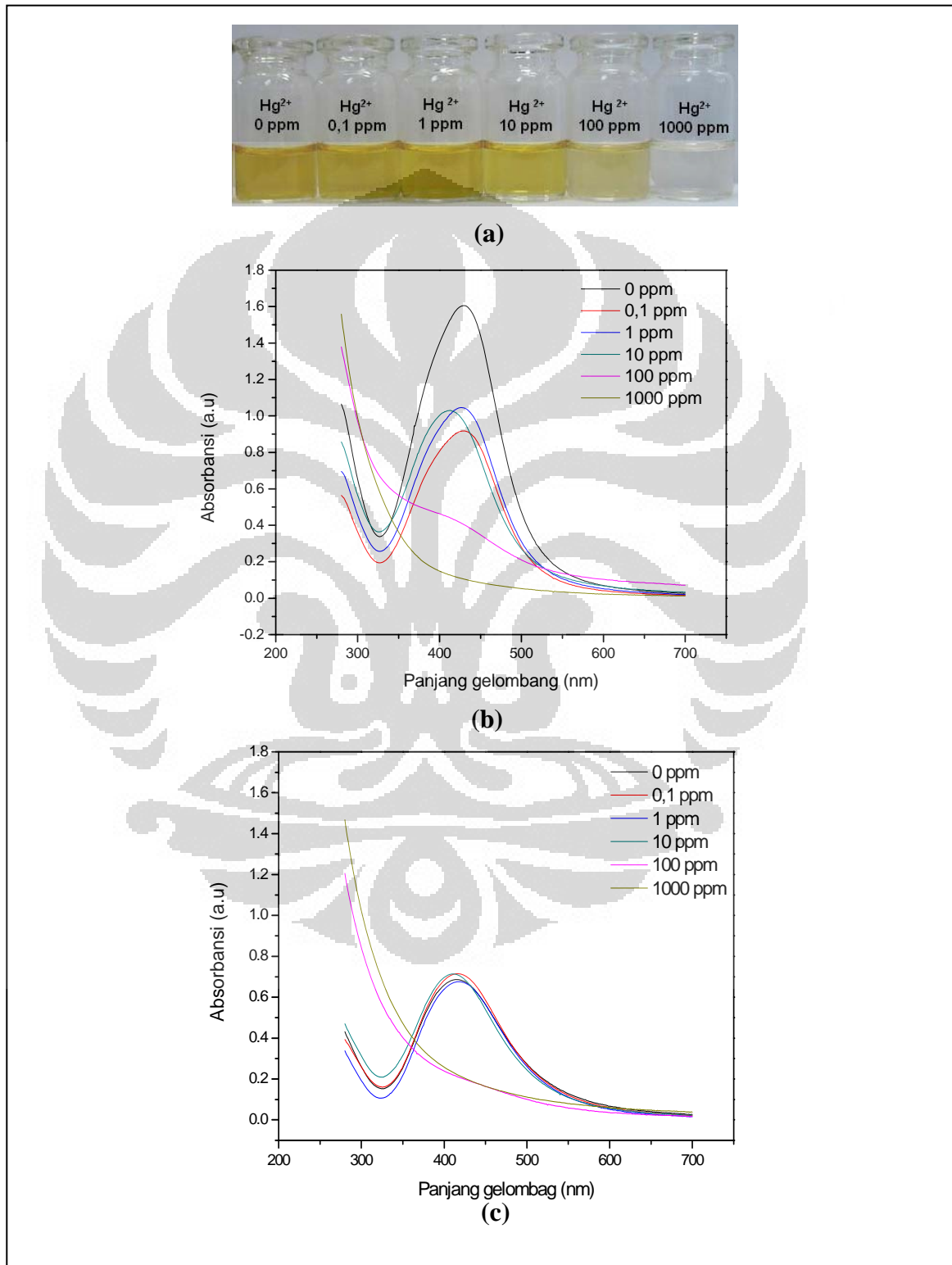
Keterangan:

M_1	= Konsentrasi larutan stok
V_1	= Volume larutan stok yang akan ditambahkan
M_2	= Konsentrasi yang hendak dibuat
V_2	= Volume larutan yang akan dibuat

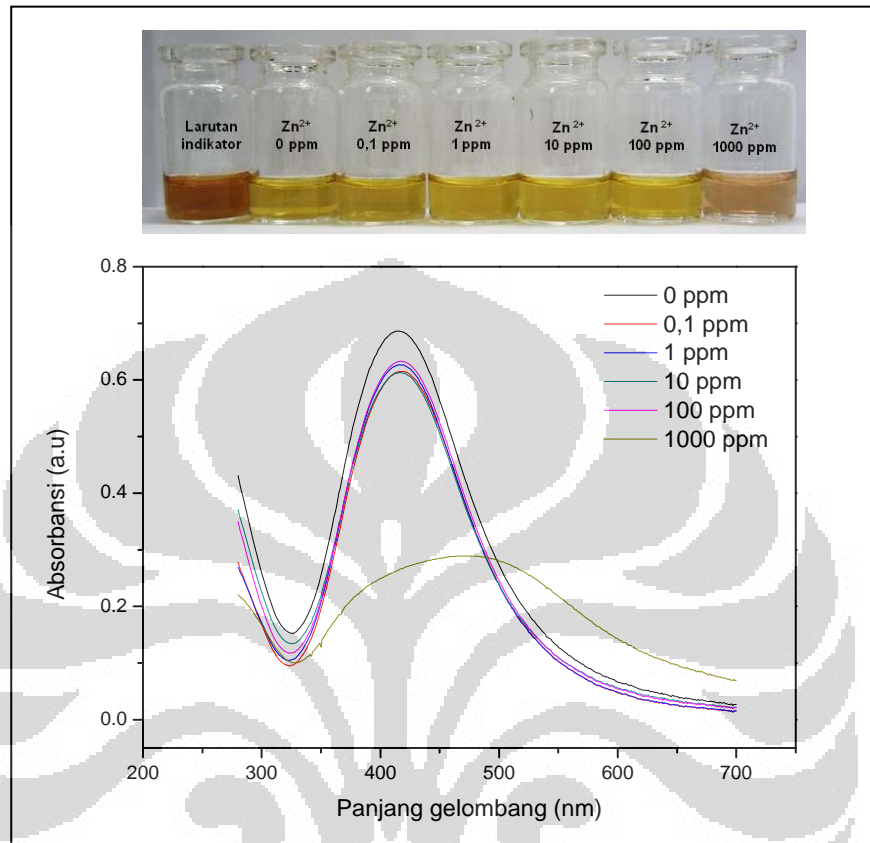
Lampiran 6. Pengujian larutan indikator 1 (a), indikator 2 (b), indikator 3 (c), dan indikator 4 (d), untuk deteksi ion Cu^{2+} pada beberapa konsentrasi.



Lampiran 7. Hasil deteksi ion Hg^{2+} yang cenderung identik pada semua pengujian (a), hasil spektrofotometer UV-Vis pada deteksi ion Hg^{2+} dengan larutan indikator 3 (b), dan indikator 5 (c).



Lampiran 8. Hasil pengujian larutan indikator 5 (NPP + L-sisteina 0,1 mM) untuk deteksi ion Zn^{2+} pada beberapa konsentrasi.



Lampiran 9. Glossarium

Aglomerasi : suatu kelompok massa yang cenderung membentuk massa yang membulat.

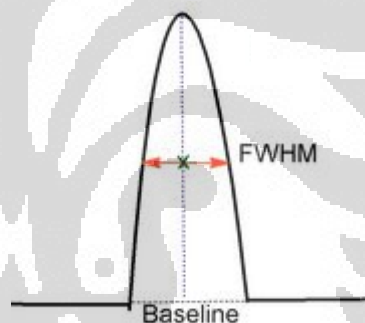
Agregasi : molekul-molekul yang saling berikatan membentuk kelompok tertentu (agregat).

Analit : molekul atau senyawa tertentu yang ingin diketahui keberadaannya baik secara kualitatif atau kuantitatif.

Bottom-up fabrication : proses pembentukan yang terjadi mulai dari unit terkecil dari suatu material (atom) menjadi produk akhir yang dikehendaki.

Fungsionalisasi : penempelan kelompok molekul pada suatu permukaan sesuai dengan tujuannya.

FWHM : (= *Full width at half maximum*) lebar dari tinggi setengah puncak kurva Gaussian.



Kolorimetri : metode yang digunakan untuk menentukan keberadaan suatu senyawa umumnya dalam larutan dari adanya perubahan warna larutan.

Ligan : ion atau molekul yang mampu membentuk ikatan kompleks (gugus fungsional) dengan atom logam, ligan dapat berupa polimer dan asam amino.

Logam berat : zat yang memiliki densitas molekul lebih dari 3 g/cm^3 .

Nanopartikel : materi yang berukuran $1\text{--}100 \text{ nm}$ ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$), dapat berupa logam, oksida logam, semikonduktor, polimer, dan senyawa organik.

Nanosains : ilmu yang mempelajari sifat materi yang berukuran $1\text{--}100 \text{ nm}$ ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$).

- Nanoteknologi** : teknik untuk mendisain materi pada skala nano yang memungkinkan untuk memanfaatkan dan merekayasa struktur materi atom per atomnya maupun tingkat molekul karena ukurannya yang kecil.
- Polimer** : molekul besar yang tersusun dari molekul yang lebih kecil yang berulang, umumnya tersusun dari rantai atom karbon yang panjang.
- Reduksi** : berkurangnya jumlah ikatan karbon oksigen karena adanya penambahan hidrogen atau terjadinya penambahan elektron.
- SPR** : (*=surface plasmon resonance*) eksitasi dari *surface plasmon vibration* oleh cahaya terhadap suatu struktur logam yang berukuran nanometer.

