

SINTESIS NANOPARTIKEL DARI PERAK NITRAT DENGAN TIROSIN SEBAGAI REDUKTOR DAN AGEN PENGKAPING UNTUK MEMBENTUK NANOKOMPOSIT FILM AgNPs-POLI ASAM LAKTAT SEBAGAI ANTIBAKTERI

SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING TYROSINE AS A REDUCTORS AND CAPING AGENTS FOR NANOCOMPOSITES AgNPs-POLY LACTIC ACID FILM AS ANTIBACTERY

Chuchita^{1,a*}, Sri Juari Santoso^{1,b}, dan Suyanta^{1,c}

Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gadjah Mada

Abstrak

Telah dilakukan sintesis nanopartikel dari perak nitrat dengan asam amino tirosin sebagai reduktor dan agen pengkaping. Reaksi dilakukan pada berbagai pH dan konsentrasi tirosin untuk mengetahui pH dan konsentrasi optimum tirosin dan dianalisis dengan instrumen spektrofotometer UV-Vis. Variasi pH tirosin yaitu pada pH 7-13, dan variasi konsentrasi tirosin masing-masing 0,02; 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 15; dan 20 mM. Variasi waktu reaksi juga diteliti untuk mengetahui waktu reaksi optimum untuk sintesis AgNPs. Variasi waktu reaksi yang digunakan adalah 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, dan 120 menit. AgNPs disintesis untuk membentuk nanokomposit pada film poli asam laktat (PLA). Nanokomposit film PLA nanopartikel perak (KAgNPs) ini kemudian digunakan sebagai antibakteri. Karakterisasi dilakukan dengan instrumen spektrofotometer UV-Vis, FTIR, TEM, dan SEM EDX. Hasil eksperimen menunjukkan bahwa asam amino tirosin dapat berperan sebagai reduktor dan agen pengkaping dalam sintesis AgNPs ditandai dengan perubahan warna dari tidak berwarna menjadi kuning. pH sistem berpengaruh terhadap kemampuan tirosin dalam mereduksi ion perak. AgNPs terbentuk pada keadaan basa dengan pH optimum 11. Konsentrasi optimum tirosin adalah 1 mM dan konsentrasi AgNO₃ 1 mM, sehingga didapatkan perbandingan konsentrasi asam amino tirosin dan AgNO₃ yaitu 1:1. Waktu reaksi optimum untuk mensintesis AgNPs terjadi pada menit ke empat puluh lima pada suhu 100 °C. Hasil karakterisasi AgNPs menggunakan TEM menunjukkan bahwa partikel AgNPs berbentuk bulat. Ukuran partikel rata-rata AgNPs dalam koloidalnya adalah 15,10 nm, sedangkan nanokomposit KAgNPs memiliki ukuran partikel rata-rata yang lebih besar yaitu 15,30 nm.

Kata kunci: nanopartikel perak, tirosin, antibakteri.

Abstract

Synthesis of nanoparticles from silver nitrate using tyrosine as reducing agents and capping agents has been conducted. Silver nanoparticles (AgNPs) were synthesized at various pH and different tyrosine concentrations aimed at determining the pH and optimum concentrations of tyrosine and analyzed by UV-Vis spectrophotometer instruments. The variation of pH of tyrosine was at pH 7-13, and the variation of tyrosine concentration was 0.02; 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 15; and 20 mM, respectively. Variations of reaction time were also investigated to determine the optimum reaction time for synthesis of AgNPs. The reaction time variations used were 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, and 120 minutes. AgNPs are synthesized to form nanocomposites in lactic acid poly (PLA) films. The silver nanoparticles PLA nanocomposite film (KAgNPs) is then used as an antibacterial. Characterization was performed with UV-Vis spectrophotometer, FTIR, TEM, and SEM EDX instruments. The experimental results showed that amino acids can be used as reducing agents and the capping agent in AgNP synthesis characterized by the color from yellow to yellow. The pH of the system affected the ability of tyrosine in reducing silver ions. AgNPs are formed in alkaline state with optimum pH 11. Optimum tyrosine concentration is 1 mM and AgNO₃ concentration 1 mM, Status found in amino acid tyrosine and AgNO₃ is 1: 1. The optimum reaction time to synthesize AgNPs

occurs at minute forty five at temperature 100 °C. The result of characterizing AgNPs using TEM indicates that the AgNPs particle access is unanimous. The average particle size of AgNPs in colloids is 15.10 nm, whereas the KAgNPs nanocomposite has a larger average aperture size of 15.30 nm.

Keywords: silver nanoparticles, tyrosine, antibacterials.

1. PENDAHULUAN

Sifat nanoteknologi yang berukuran nano saat ini menjadi perhatian para peneliti. Nanoteknologi mengacu secara luas pada aplikasi bidang sains dan teknologi dengan ukuran molekul berskala kecil 1-100 nm. Salah satu contohnya adalah dalam menjelaskan pembentukan nanopartikel. Nanopartikel logam, seperti perak, besi, seng, dan logam oksida dapat digunakan dalam aplikasi biomedis karena luas permukaan yang besar dan rasio volumenya (Prasad et al., 2013). Nanopartikel perak banyak dipelajari karena memiliki sifat fisika, kimia, dan mikrobakterial yang unik terutama dalam bidang optis, katalisis, dan biomedis (Korbekandi and Iravani, 2012). Secara konvensional, zat pereduksi kimia seperti sodium borohydride, dimethylformamide, triethanolamine, dan hydrazine digunakan dalam proses produksi nanopartikel perak (AgNPs) dengan bahan awal perak nitrat (AgNO_3) (Yoksan and Chirachanchai, 2010). Namun, bahan kimia yang digunakan dalam proses tersebut sering beracun dan berbahaya bagi lingkungan yang membuat mereka tidak cocok untuk banyak aplikasi. Hal inilah yang memicu berbagai metode *green chemistry* untuk sintesis AgNPs yang dikembangkan dengan menggunakan sumber biologis yang ramah lingkungan, biokompatibel yang sangat aman. Sumber yang dimaksud adalah seperti ekstrak tumbuhan, enzim, mikroorganisme, dan berbagai biopolimer seperti karbohidrat dan protein (Habbalalu et al., 2013). Asam amino tirosin adalah asam amino non esensial dimana AgNPs yang disintesis menggunakan asam amino ini kurang beracun bagi sel mamalia (Daima et al., 2014). Asam amino tirosin dalam suatu larutan berbentuk ion dipolar (zwitterion) yang dapat mencegah agregasi elektrostatis, dimana gugus polar akan terhidrasi dan menurunkan gaya elektrostatis tersebut. Keuntungan penggunaan asam amino tirosin untuk membentuk nanostruktur menggunakan interaksi biologi yakni pada kestabilan pH dan kekuatan ioniknya (Aryal et al., 2006).

Ukuran perak dalam skala nano menjadi pertimbangan penting karena dapat meningkatkan reaktivitas pada permukaan perak (Raffi et al., 2008; Guzman et al., 2009). Tingginya luas permukaan AgNPs merupakan faktor yang menjadikan AgNPs dimanfaatkan sebagai antibakteri. Sifat antibakteri yang dimiliki oleh AgNPs telah diimplikasikan pada berbagai bidang seperti salah satunya pada industri makanan (Tankhiwale and Bajpai, 2009). Adanya inovasi pada skala nano dan aplikasi teknologi nano pada senyawa polimer membuka peluang baru untuk perbaikan tidak hanya pada sifat-sifat polimer yang bersangkutan, tetapi juga terhadap biaya pembuatannya yang lebih efisien (Sorrentino et al., 2007). Bahkan inovasi teknologi nano saat ini telah dikembangkan dalam bentuk aplikasi untuk mendeteksi bakteri patogen, pengemas atau kemasan aktif, kemasan antimikroba dan penghambat formasi terbentuknya racun. Hingga saat ini telah banyak dikembangkan implementasinya pada senyawa atau bahan komposit nano polimer (Emamifar et al., 2010; Brody et al., 2008).

Pengembangan material polimer telah banyak dilakukan penelitian untuk mengembangkan material nanokomposit, dimana filler berukuran nano terdispersi ke dalam sistem matrik polimer. Jenis nanopartikel yang banyak digunakan sebagai objek penelitian dan sudah diproduksi secara luas, terutama dalam bidang polimer nanokomposit adalah

tanah lempung (*clay*) (Syuhad *et al.*, 2009). Nanokomposit dianggap sebagai struktur padat dengan dimensi berskala nanometer dengan jarak antar bentuk penyusun struktur yang berbeda. Material-material dengan jenis seperti itu terdiri atas padatan anorganik yang tersusun atas komponen organik. Selain itu, material nanokomposit dapat terdiri atas dua atau lebih molekul anorganik/organik dalam beberapa bentuk kombinasi dengan pembatas antar keduanya minimal satu molekul atau memiliki ciri berukuran nano (Hadiyawarman *et al.*, 2008). Nanokomposit dibuat dengan menyisipkan nanopartikel (nanofiller) ke dalam sebuah material makroskopik (matriks). Pencampuran nanopartikel ke dalam matriks penyusun merupakan bagian perkembangan dunia nanoteknologi. Setelah menambahkan sejumlah nanopartikel ke dalam material matriks, nanokomposit yang dihasilkan menunjukkan sifat yang lebih unggul dibandingkan sifat material sebelumnya, sedangkan matriks yang biasa digunakan berupa matriks polimer, logam dan keramik (Chitraningrum, N., 2008).

Berbagai polimer turunan alami termasuk polisakarida telah banyak digunakan untuk mengembangkan film perak yang *biodegradable*. Hal tersebut karena sifatnya dalam pembentukan film yang lebih baik, permeabilitas oksigen dan kelembaban yang moderat, serta sifat koloid yang unik. Dalam hal ini agar merupakan salah satu polisakarida yang paling menjanjikan untuk pengembangan *biodegradable* karena kekuatan mekaniknya yang tinggi dan sifat tahan air moderat (Gimenez *et al.*, 2013). Film agar dengan bahan poli asam laktat (PLA) memiliki keunggulan karena sifatnya yang mudah terurai secara biologis. Film nanokomposit yang dibentuk dari bahan yang *biodegradable* dan memiliki sifat antibakteri tersebut kemudian dimungkinkan memiliki fungsi sebagai bahan pembungkus makanan.

Sifat film seperti penghalang uap mekanis, mekanik, air, dan sifat antimikroba untuk kemudian diteliti. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan sebagai salah satu alternatif untuk menciptakan produk film nanokomposit dari nanopartikel poli asam laktat yang memiliki sifat antibakteri dan *biodegradable*, sehingga aman bagi lingkungan. Penelitian ini dilakukan dengan mensintesis nanopartikel perak nitrat dengan tirosin sebagai reduktor dan agen pengkaping untuk membentuk nanokomposit pada film poli asam laktat sebagai antibakteri.

2. Metode Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas (gelas beker, pipet volum, pipet tetes, cawan petri), batang magnet, neraca analitik (Mettler Toledo AL204), pH meter (TOA HM-5B), *stopwatch*, *hotplate*, Inkubator (Mettmert IN30), *autoclave* (Systec V), dan oven (Kirin KBO-190RAW). Peralatan analisis yang dipakai meliputi spektrofotometer infra merah (Shimadzu FT-IR 8201PC), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-2700), *Scanning Electron Microscope* (SEM) Zeiss DSM 960, dan *Transmission Electron Microscope* (TEM) JIOL seri JEM-1400.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yang diproduksi oleh Merck adalah perak nitrat (AgNO_3) (99,98%), L-tirosin (99%) dengan berat molekul 181,19 g/mol, Pepton, HCl 1 M, dan KOH 1 M. Bahan lain seperti Akuades, dan akuabides diperoleh dari CV. General Labora. Poli asam laktat (PLA) dengan bobot molekul dapat mencapai 100.000 hingga 500.000 g/mol, dan titik leleh antara 175-200 °C diproduksi oleh perusahaan Shimadzu. Bakteri *Bacillus Subtilis* (*kingdom: Bacteria; phylum: Firmicutes; class: Bacilli; order: Bacillales; family: Bacillaceae; genus: Bacillus*), Nutrien agar (NA), dan *Extract beef* diperoleh dari laboratorium mikrobiologi Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.

2.1 Pembentukan nanopartikel perak (AgNPs)

Nanopartikel perak disintesis dengan asam amino tirosin sebagai reduktor dan agen pengkaping. Asam amino tirosin dengan konsentrasi 1 mM diatur pada pH 7-13 dengan konsentrasi AgNO_3 1 mM. Sintesis dilakukan selama 1 jam dengan pemanasan. Untuk menentukan konsentrasi optimum tirosin, sebanyak 5 mL larutan asam amino tirosin dengan pH optimum yang diperoleh dari prosedur sebelumnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan konsentrasi masing-masing 0,02; 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 15; dan 20 mM dan ditambahkan 5 mL AgNO_3 dengan konsentrasi 1 mM. Sintesis dilakukan selama 1 jam dengan pemanasan. Dalam menentukan waktu reaksi optimum, larutan AgNO_3 direaksikan dengan tirosin pada konsentrasi dan pH optimum yang diperoleh dari prosedur sebelumnya. Variasi waktu reaksi yang digunakan adalah 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, dan 120 menit. Larutan hasil reaksi dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis yang dioperasikan dengan mode pengukuran absorbansi, interval pengukuran 1,0 nm dan kecepatan pengukuran *fast* pada panjang gelombang 300-700 nm. Langkah ini diulang untuk mendapatkan hasil duplo. Uji kestabilan AgNPs dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis dilakukan dengan mode pengukuran absorbansi, interval pengukuran 1,0 nm dan kecepatan pengukuran *fast* pada panjang gelombang 300-700 nm. Pengukuran dilakukan pada interval waktu 0, 1, 2, 3, 6 jam, 1, 2, 3, 4, 5, 6 hari, 1 dan 2 minggu. Pengamatan dilakukan untuk mengetahui perubahan absorbansi atau pergeseran serapan koloid AgNPs selama waktu penyimpanan. Karakterisasi AgNPs dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dan TEM.

2.2 Preparasi film PLA dan KAgNPs (KAgNPs)

Pembuatan nanokomposit film PLA AgNPs, yaitu 1,5 g serbuk PLA ditambahkan perlahan-lahan ke dalam 100 mL AgNPs yang dibuat dengan cara dipreparasi sebelumnya dan diaduk sampai larut. Dilanjutkan dengan pemanasan pada suhu 80 °C selama 20 menit dengan pengadukan konstan. Larutan pembentuk film yang larut sempurna dituangkan dan diratakan pada cawan petri dalam jumlah yang menghasilkan ketebalan 0,1 mm dan dikeringkan pada suhu kamar sekitar 48 jam. Dilakukan pembuatan film PLA sebagai kontrol. Film PLA dipreparasi dengan metode yang sama tanpa penambahan AgNPs.

2.3 Uji Aktivitas Antimikroba

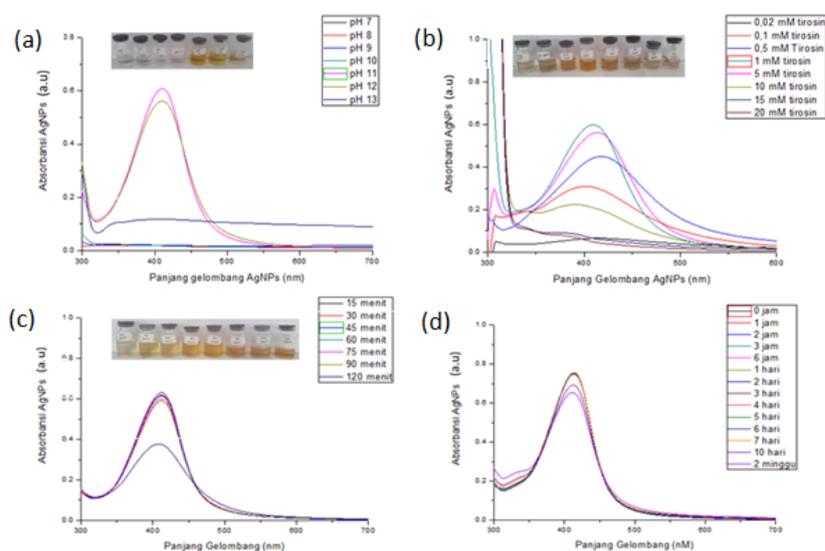
Bakteri yang digunakan adalah *Bacillus subtilis*. Biakan bakteri yang telah tumbuh di atas permukaan agar pada bidang miring tersebut digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri sampel. Media kultur dari nutrisi agar (NA) sebagai media uji antibakteri. Selanjutnya media tersebut dituangkan ke dalam cawan petri yang terlebih dahulu disterilkan dengan cara mencuci cawan petri menggunakan akuabides. Sebanyak 20 mL media kultur ditambahkan ke dalam cawan petri steril. Selanjutnya, film nanokomposit PLA AgNPs dipotong sebagai cakram (diameter 8 mm) sebanyak dua potong, kemudian diletakkan di atas cawan tersebut. Cawan tersebut diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Aktivitas antibakteri dihitung dengan zona hambatnya dalam diameter satuan mm.

3. Hasil dan Pembahasan

Pembentukan AgNPs pada penelitian ini ditunjukkan dengan perubahan warna hasil reaksi antara AgNO_3 dengan asam amino tirosin. Perubahan warna dari tidak berwarna menjadi berwarna kuning. Warna kuning dari hasil reaksi tersebut disebabkan oleh adanya resonansi permukaan dari AgNPs yang dapat diukur dengan spektrofotometer UV/Vis. Hasil Intensitas serapan yang didapatkan dari uji spektrofotometer UV/Vis menunjukkan jumlah nanopartikel yang terbentuk. Absorbansi serapan untuk AgNPs yaitu pada daerah panjang

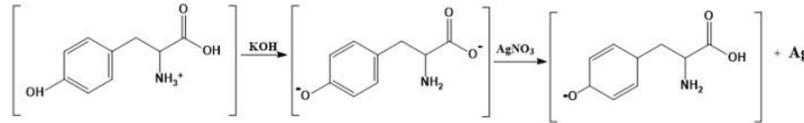
gelombang sekitar 400 nm. Adanya serapan pada sekitar daerah panjang gelombang 400 nm merupakan karakterisasi awal untuk mengetahui bahwa nanopartikel mulai terbentuk. Semakin tinggi intensitas serapan maka semakin banyak nanopartikel yang terbentuk. Awalnya larutan campuran AgNO_3 dan asam amino tirosin tidak berwarna dan transparan, kemudian saat dilakukan pemanasan larutan tersebut berubah warna menjadi kuning. Perkembangan warna menginduksi pembentukan AgNPs dalam larutan. Reaksi pembentukan AgNPs berlangsung jika dilakukan pemanasan. Pemanasan pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan penangas air.

Asam amino tirosin dengan konsentrasi 1 mM diatur pada pH 7-13 dengan menggunakan larutan HCl atau KOH. Langkah ini dilakukan untuk mengetahui pH optimumnya dengan konsentrasi larutan AgNO_3 1 mM. Dari hasil pengamatan tidak menunjukkan perubahan warna pada pH 7-10. Pada pH 13 juga tidak menunjukkan perubahan warna. Hasil analisis dengan menggunakan spektrofotometer UV/Vis juga tidak mengalami serapan, sedangkan larutan pada pH 11 dan pH 12 terjadi perubahan warna dari tidak berwarna menjadi berwarna kuning. Hasil analisis pada pH 11 dan pH 12 dengan menggunakan spektrofotometer UV/Vis menunjukkan adanya serapan. Walaupun demikian, warna larutan pada pH 11 terlihat lebih kuning cerah dibandingkan larutan pada pH 12. pH 11 juga menunjukkan intensitas serapan yang lebih tinggi dibandingkan dengan pH 12 sebagaimana terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. (a) Pita serapan hasil reaksi antara 5 mL AgNO_3 1 mM dengan 5 mL tirosin 1 mM pada berbagai pH, (b) Pita serapan hasil reaksi antara 5 mL AgNO_3 1 mM dengan 5 mL tirosin pada berbagai konsentrasi, (c) Pita serapan hasil serapan AgNPs dari hasil reaksi antara 5 mL AgNO_3 1 mM dengan 5 mL tirosin 1 mM pada berbagai waktu kontak, (d) Pita serapan AgNPs pada berbagai waktu penyimpanan

Hasil ini menunjukkan bahwa pH senyawa pereduksi dan agen pengkaping dimana dalam penelitian ini menggunakan asam amino tirosin mempengaruhi proses reduksi ion perak menjadi nanopartikel. Gugus fungsi fenol tirosin dapat terdeprotonasi membentuk gugus fungsi baru dan bermuatan negatif pada keadaan basa, dimana gugus fenol pada tirosin mampu melepas proton (kation H^+) membentuk basa konjugasi. Gugus fungsi bermuatan negatif tersebut dapat berikatan dengan kation logam perak melalui interaksi elektrostatik maupun ikatan kovalen koordinasi (Gambar 2). Pembentukan AgNPs dengan reduktor asam amino tirosin efektif pada kondisi basa.



Gambar 2. Mekanisme reaksi pembentukan AgNPS (Shankar *et al.*, 2015)

Ion Ag^+ di dalam larutannya direduksi untuk membentuk AgNPs logam (Ag^0). Asam amino tirosin pada kondisi basa bertujuan sebagai agen pengkaping pada AgNPs. Asam amino tirosin dengan konsentrasi 0,02 mM menunjukkan warna yang sedikit kuning. Asam amino tirosin pada konsentrasi yang semakin besar yaitu pada konsentrasi 0,1; 0,5; hingga konsentrasi 1 mM menunjukkan perubahan warna dari tidak berwarna menjadi bewarna lebih kuning dibanding pada konsentrasi 0,02 mM. Pada konsentrasi yang lebih besar yaitu pada konsentrasi 5; 10; 15; hingga konsentrasi 20 mM menunjukkan perubahan warna kuning yang semakin memudar. Dengan perubahan konsentrasi reduktor maka ukuran partikel dan warna larutan koloid akan berubah (Mailard *et al.*, 2003).

Dari hasil pengukuran menggunakan spektrofotometer UV/Vis didapatkan hasil puncak serapan sudah mulai ditunjukkan asam amino tirosin pada konsentrasi 0,02 mM. Puncak serapan semakin tinggi hingga pada konsentrasi tirosin 1 mM di sekitar panjang gelombang 380 – 430 nm. Hal berbeda ditunjukkan pada konsentrasi tirosin yang lebih besar. Puncak serapan asam amino tirosin pada konsentrasi 5; 10; 15; hingga konsentrasi 20 mM menunjukkan puncak serapan yang semakin turun dengan panjang gelombang di antara 380 – 430 nm. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi optimum asam amino tirosin yaitu pada konsentrasi 1 mM, dimana hasil pengukuran spektrofotometer UV/Vis menunjukkan serapan puncak tertinggi. Pada konsentrasi optimum tirosin, jumlah tirosin telah mencukupi untuk mereduksi partiel Ag^+ dalam larutan. Hal inilah yang menyebabkan jumlah nanopartikel yang terbentuk cukup banyak, sehingga konsentarsi tirosin 1 mM merupakan konsentrasi yang efektif dalam pembentukan AgNPs. Pada konsentrasi tirosin 0,02 mM menunjukkan absorbansi yang kecil. Hal ini disebabkan karena pada konsentrasi tirosin di bawah optimum, jumlah tirosin yang tersedia belum mencukupi untuk mereduksi Ag^+ menjadi Ag^0 , sehingga jumlah AgNPs yang terbentuk sedikit. Pada konsentrasi tirosin dengan jumlah yang banyak atau melebihi konsentrasi optimum menyebabkan tirosin mereduksi partikel Ag^+ dalam waktu yang cepat sehingga mempercepat pertumbuhan partikel dan menyebabkan terjadinya aglomerasi yang mengakibatkan AgNPs membesar sehingga ukuran AgNPs menjadi lebih bervariasi (Aguilar-Mendex *et al.*, 2011).

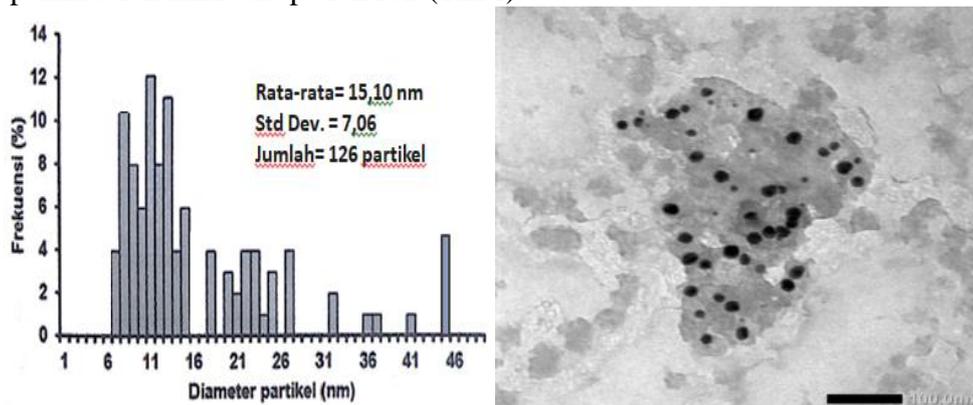
Variasi waktu bertujuan untuk mengetahui waktu reaksi optimum yang ditunjukkan melalui hasil pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV/Vis. Variasi waktu reaksi yang digunakan adalah 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, dan 120 menit. Pengamatan dari hasil reaksi yang terlihat semakin lama waktu reaksi, maka warna larutan semakin kuning pekat terlihat pada Gambar 1. Variasi waktu reaksi akan memberikan puncak serapan dengan intensitas yang berbeda. Pada waktu reaksi 15 menit sudah menunjukkan adanya puncak serapan. Puncak serapan semakin tinggi dari waktu reaksi 15 menit hingga pada waktu reaksi 45 menit. Pada waktu reaksi pada 60 menit puncak serapan mengalami penurunan hingga pada waktu reaksi 105 menit, serta mengalami penurunan yang cukup signifikan pada waktu reaksi 120 menit. Hal ini menunjukkan bahwa waktu reaksi optimum terjadi pada waktu 45 menit, dan mulai mengalami penurunan puncak serapan pada waktu reaksi lebih dari 45 menit. Menurut Ali, *et al.* (2015), hal tersebut terjadi karena proses nukleasi koloidal perak telah selesai dan mencapai bentuk serta ukuran partikel yang kecil dan stabil pada waktu sintesis maksimum. Dalam penelitian ini, proses nukleasi koloidal perak telah selesai dan mencapai bentuk serta ukuran partikel yang kecil dan stabil pada waktu sintesis 45 menit.

Uji kestabilan AgNPs dilakukan pada pH dan waktu reaksi optimum. AgNPs hasil sintesis tersebut disimpan dalam botol tertutup pada suhu kamar. Pergeseran ke arah panjang gelombang yang lebih besar mengindikasikan terjadi peningkatan ukuran partikel (Pinto *et al.*, 2010). Penurunan intensitas serapan dapat terjadi karena nanopartikel mengalami perubahan ukuran menjadi ion perak (Gunsolus *et al.*, 2015). Pelebaran puncak mengindikasikan bahwa telah terjadi agregasi (Tejamaya *et al.*, 2012). Hasil pengamatan uji kestabilan AgNPs tidak terjadi pergeseran serapan. Pengukuran pasca sintesis dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan puncak serapan yang tinggi. Puncak serapan tetap stabil hingga pengukuran waktu 1 minggu. Pengukuran pada waktu 10 hari terlihat puncak serapan mulai mengalami penurunan intensitas serapan namun tidak terjadi pergeseran posisi puncak dan lebar puncak pada ketinggian di atas setengah maksimum (FWHM). Pengukuran uji kestabilan nanopartikel perak pada waktu 2 minggu setelah sintesis menunjukkan puncak serapan yang semakin menurun namun tidak terjadi pergeseran posisi puncak serapan dan lebar puncak pada ketinggian di atas setengah maksimum (FWHM).

Dari hasil pengamatan tersebut dari 0 jam hingga 2 minggu menunjukkan bahwa absorbansi serapan AgNPs mulai turun pada waktu pengukuran 10 hari. Intensitas serapan semakin turun pada waktu pengukuran 2 minggu karena jumlah AgNPs mengalami penurunan, namun tidak terjadi peningkatan ukuran partikel dan agregasi. Hal tersebut terlihat dengan tidak adanya puncak serapan yang bergeser dan melebar.

3.1 Karakterisasi AgNPs

Pembentukan AgNPs dipantau dari perubahan warna larutan dan penyerapan cahaya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 300 sampai 700 nm dimana puncak serapan jelas terdeteksi pada 418 nm. Bentuk dan ukuran AgNPs ditentukan dengan pemindaian mikroskop elektron (TEM).



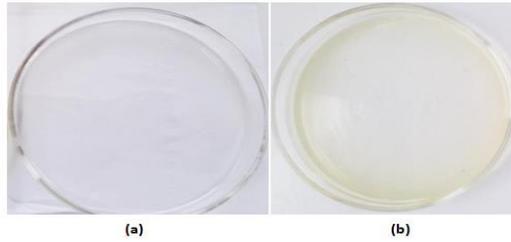
Gambar 3. Citra TEM AgNPs pada pH, konsentrasi dan waktu kontak optimum

Pada Gambar 3 terlihat bahwa AgNPs berbentuk bulat dan memiliki ukuran hampir sama. Ukuran partikel, bentuk partikel dan konstanta dielektrik dari medium di sekitarnya mempengaruhi posisi dan bentuk dari pita serapan. Munculnya serapan pada kisaran panjang gelombang 400 nm menunjukkan bahwa partikel memiliki bentuk yang bulat (Guzman *et al.*, 2009). Rata-rata ukuran AgNPs 15,10 nm. hal ini memperlihatkan bahwa partikel perak memiliki ukuran dalam skala nano (<100 nm).

3.2 Preparasi nanokomposit film PLA agNPs (KAgNPs)

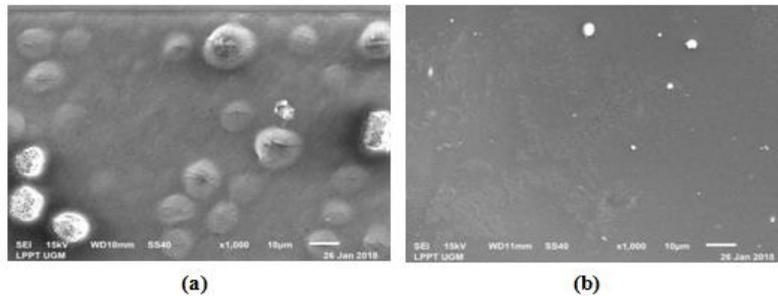
Pembuatan KagNPs dibuat dengan larutan AgNPs yang sudah disintesis pada keadaan optimum dan dengan penambahan agar. Nanokomposit film PLA dibuat dengan

penambahan AgNPs. Film PLA dengan hanya ditambahkan agar tanpa penambahan AgNPs. Film PLA tanpa AgNPs dibuat sebagai kontrol.



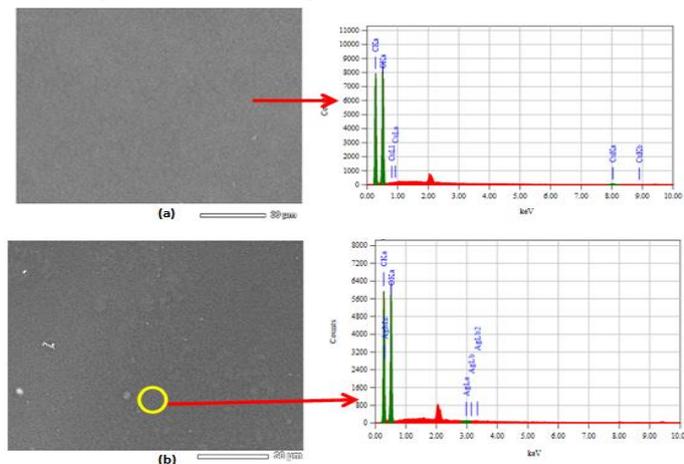
Gambar 4. (a) Film PLA, (b) KAgNPs

Film agar tanpa penambahan AgNPs terlihat tidak berwarna sedangkan KAgNPs berwarna sedikit kuning muda. Warna kuning pada KAgNPs dihasilkan dari warna larutan AgNPs yang telah disintesis sebelumnya. Pada Gambar 5, film agar terlihat memiliki permukaan yang tidak rata. Pada permukaannya terdapat seperti benjolan-benjolan kasar sedangkan pada KAgNPs terlihat memiliki permukaan yang halus bahkan ketika dilihat sampai perbesaran 1000 kali. Benjolan-benjolan pada permukaan film agar dimungkinkan terjadi karena interaksi udara, sehingga ukuran partikel agar pun menjadi besar.



Gambar 5. Citra SEM (a) Film PLA, (b) KAgNPs

Pada KAgNPs juga terlihat seperti ada butiran berbentuk bulat. Hal ini menunjukkan bahwa nanokomposit PLA AgNPs mempengaruhi struktur permukaan dari PLA. Elemen perak pada KAgNPs dianalisis menggunakan SEM EDX. Dilakukan juga analisis film PLA dengan menggunakan SEM EDX untuk mengetahui komposisi elemen yang terdapat di dalamnya. Analisis SEM EDX dapat memberikan informasi elemen secara kuantitatif dan kualitatif yang terlibat dalam pembentukan AgNPs (Bindhu and Umadevi, 2013).



Gambar 6. Hasil SEM EDX (a) Film PLA, (b) KAgNPs

Berdasarkan SEM EDX pada Gambar 6, film PLA menunjukkan tidak adanya spot, sedangkan pada KAgNPs terlihat spot putih pada permukaan film. Spot tersebut merupakan AgNPs.

Tabel 1. Hasil analisis kuantitatif SEM EDX film PLA

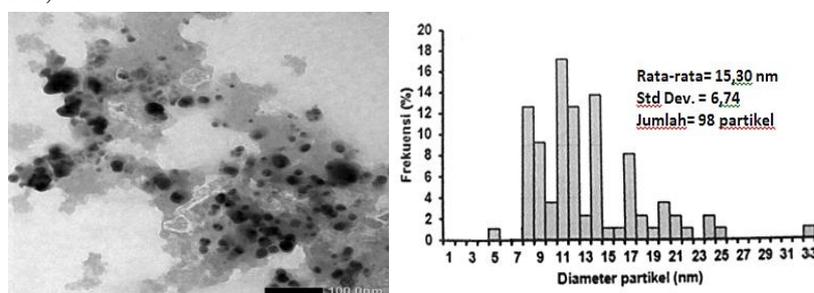
Element	keV	% Massa	Sigma	% Atom	K
C	0,277	39,80	0,11	44,26	43,7655
O	0,525	59,85	0,31	55,74	56,2345
Total	100,00			100,00	

Tabel 2. Hasil analisis kuantitatif SEM EDX KAgNPs

Element	keV	% Massa	Sigma	% Atom	K
C	0,277	34,60	0,10	40,92	30,3705
N	0,392	8,77	0,18	8,90	10,3395
O	0,525	56,52	0,27	50,17	59,1689
Ag	2,983	0,10	0,03	0,01	0,1211
Total	100,00			100,00	

Dari hasil SEM EDX KAgNPs tersebut puncak AgNPs ditunjukkan pada 3 keV, yang mengkonfirmasi keberadaan unsur perak di AgNPs (Magudapathy *et al.*, 2001). Hasil analisis kuantitatif SEM-EDX juga menunjukkan puncak karbon dan oksigen. Puncak karbon dan oksigen menunjukkan adanya asam amino pada permukaan AgNPs, sedangkan puncak platina muncul karena lapisan sampel dilapisi dengan platina sebelum dianalisis.

Citra TEM KAgNPs memiliki bentuk bulat dan memiliki ukuran dalam skala nano terlihat pada Gambar 7. Bentuk bulat dan ukuran KAgNPs ini hampir sama dengan koloidalnya seperti pada Gambar 3. Berdasarkan Gambar 7 tersebut bahwa ukuran KAgNPs lebih besar dibandingkan koloidalnya. Ukuran AgNPs dalam koloidalnya berukuran 15,10 nm, sedangkan ukuran AgNPs dalam KAgNPs berukuran 15,30 nm. Hal ini disebabkan terjadinya proses agregasi pada saat penguapan pelarutnya, dimana saat pelarut tersebut menguap partikel-partikel perak akan saling mendekat satu sama lain, sehingga menyebabkan agregasi membentuk partikel baru dengan ukuran lebih besar yaitu 15,30 nm dan deviasinya 6,74.

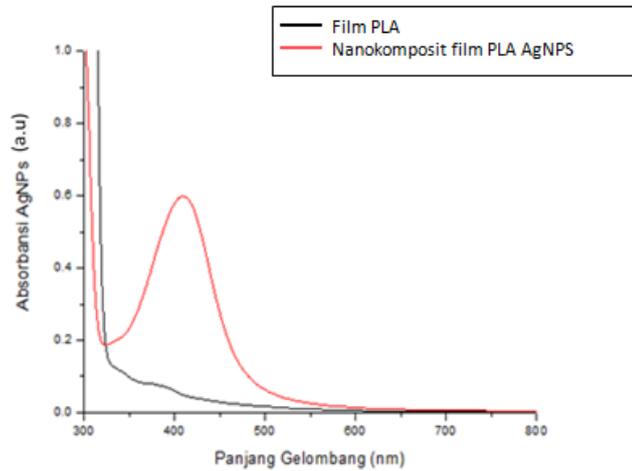


Gambar 7. Citra TEM dari KAgNPs

3.3 Analisis Uv-Vis film PLA dan KAgNPs

Pembentukan AgNPs dipantau dengan perubahan warna larutan dan penyerapan cahaya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 300 sampai 700 nm. Dari hasil UV-Vis terlihat jelas bahwa KAgNPs menunjukkan serapan yang berbeda dibandingkan dengan film PLA. Film PLA tanpa penambahan AgNPs di dalamnya menunjukkan tidak adanya puncak serapan. Nanokomposit AgNPs menunjukkan puncak serapan pada 416 nm

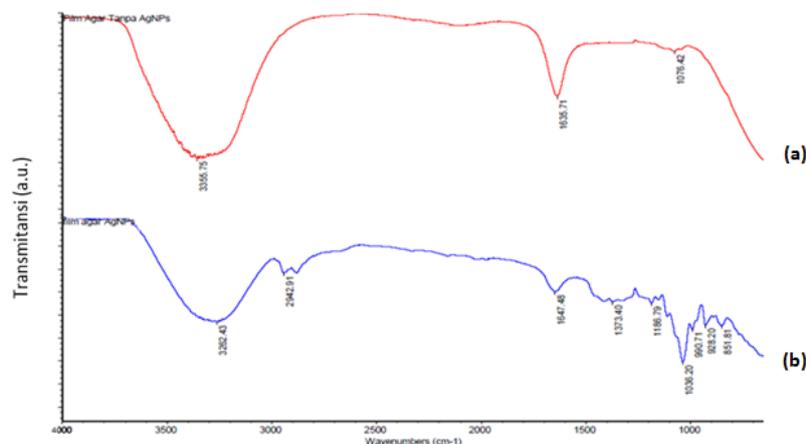
(Gambar 8). Namun bila dibandingkan dengan AgNPs yang masih dalam bentuk koloidalnya, KAgNPs memberikan puncak serapan yang lebih rendah. Hal ini disebabkan karena adanya penambahan PLA dengan konsentrasi koloidal AgNPs yang kecil, sehingga dihasilkan ukuran nanopartikel yang lebih beragam. Hal ini ditandai dengan puncak serapan yang semakin menurun diikuti dengan puncak yang semakin melebar. Walaupun demikian KAgNPs tetap menunjukkan absorpsi serapan di kisaran panjang gelombang 380 – 430 nm.



Gambar 8. Pita serapan film PLA dan KAgNPs

Spektrum UV-Vis pada KAgNPs, menunjukkan tidak ada puncak penyerapan untuk larutan AgNO_3 atau PLA secara terpisah. Hal ini menunjukkan bahwa antara AgNPs dan PLA tercampur merata. Bentuk spektra simetris menunjukkan penyebaran seragam bentuk bulat nanopartikel (Travan *et al.*, 2009).

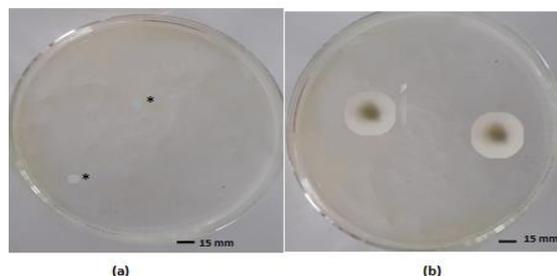
Spektrum FT-IR film PLA dan KAgNPs menunjukkan puncak yang khas yaitu pada kisaran $4000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ terlihat pada Gambar 9. Film PLA menunjukkan pita penyerapan yang luas pada sekitar 3355 cm^{-1} dan KAgNPs pada 3262 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur O-H pada gugus hidroksil. Pada puncak 2942 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur C-H pada gugus alkana. Puncak pada 1647 cm^{-1} mengakibatkan vibrasi peregangan dari pembentukan (Shankaret *al.*, 2014). Puncak KAgNPs pada 1373 cm^{-1} disebabkan oleh adanya C-O karboksilat (Volery *et al.*, 2004). Puncak karakteristik di 1036 cm^{-1} dan 928 cm^{-1} mengindikasikan adanya C-O alkohol.



Gambar 9. Spektrum FTIR film PLA dan KAgNPs

3.4 Ujiaktivitas Antibakteri

Aktivitas penghambatan antibakteri diukur berdasarkan diameter zona hambat yang ditandai dengan munculnya zona bening di sekitar nanokomposit perak yang diletakkan di atas suspensi bakteri 0,1 mL. Zona bening yang luas menunjukkan bahwa nanokomposit perak memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi.



Gambar 10. Zona hambat (a) Film PLA, dan (b) KAgNPs (Keterangan: *potongan cakram film PLA)

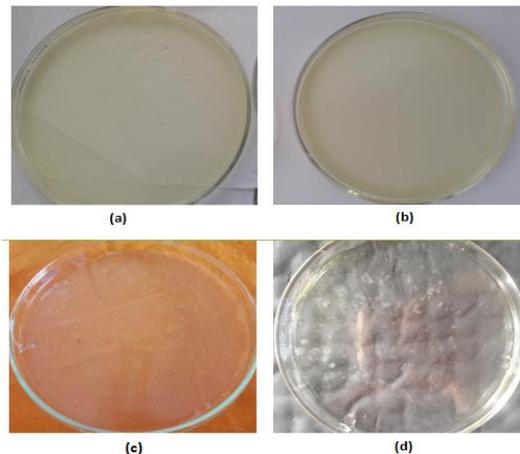
Film PLA tidak menunjukkan adanya zona hambat terlihat dari tidak adanya zona bening di sekitar cakram film PLA. Film PLA memiliki permukaan yang tidak rata dan bergelombang dengan banyaknya muncul garis-garis dan bercak putih yang banyak. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri berkembang biak dengan baik pada film PLA (Sukhlaet *et al.*, 2012). Film PLA yang ditempatkan di atas bakteri *Bacillus subtilis* tidak memberi dampak buruk terhadap pertumbuhan atau perkembangan bakteri tersebut (Gambar 10). Hal tersebut dibuktikan dengan tidak adanya zona hambat serta permukaan film PLA yang menunjukkan adanya bercak putih yang merata. Hal ini membuktikan bahwa film PLA sebagai kontrol dimana film tersebut tidak menunjukkan pengaruh dalam menghambat aktivitas pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Hal tersebut berbeda dengan KAgNPs dimana diameter zona hambat nanokomposit AgNPs dengan menggunakan bakteri *Bacillus subtilis* adalah 15,4 mm. Penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri tersebut yaitu berasal dari nanopartikel perak yang disintesis dengan asam amino tirosin. Aktivitas antibakteri dari AgNPs dipengaruhi oleh ukuran, luas permukaan dan morfologinya serta derajat dispersinya (Ragiel *et al.*, 2013). Ukuran AgNPs yang kecil inilah yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan atau perkembangbiakan bakteri *Bacillus subtilis*.

Mekanisme penghambatan bakteri oleh AgNPs adalah penyerapan ion Ag^+ dimana terjadi penghambatan produksi ATP dan replikasi DNA (Feng *et al.*, 2000). Dimana mekanisme antibakteri AgNPs diawali dengan pelepasan ion Ag^+ oleh AgNPs. Kemudian terjadi interaksi antara ion Ag^+ dengan gugus tiol sulfidril pada protein membran sel bakteri *Bacillus subtilis*. Ion perak akan menggantikan kation hidrogen (H^+) dari gugus tiol sulfidril sehingga menghasilkan gugus S-Ag yang lebih stabil pada permukaan sel bakteri. Hal inilah yang dapat menonaktifkan enzim dan menurunkan permeabilitas membran sel bakteri *Bacillus subtilis*. Pada saat yang bersamaan inilah, ion Ag^+ akan terserap ke dalam sel dan mengubah struktur DNA sehingga menyebabkan kematian sel bakteri *Bacillus subtilis*. AgNPs dan ion Ag^+ membentuk *reactive oxygen species* (ROS) dan mekanisme penghambatan AgNPs langsung merusak membran sel (Marambio-Jones *et al.*, 2010). Ketika AgNPs tersebut berdifusi pada media bakteri, maka AgNPs akan masuk dalam sel bakteri sehingga akan mempengaruhi permeabilitas dan fungsi membran tersebut, karena disaat nanopartikel masuk dalam sel bakteri, sebagian AgNPs juga mengalami desolusi melepaskan ion perak bersama AgNPs membentuk ROS sehingga menghambat produksi ATP dan replikasi DNA bakteri tersebut. Penelitian sebelumnya yang dilakukan Sondi dan

Sondi (2004) mengungkapkan bahwa bakteri telah rusak dan terdapat lubang pada dinding selnya. Sementara AgNPs ditemukan terakumulasi dalam membran sel. Membran dengan morfologi tersebut dengan meningkatnya permeabilitas menyebabkan kematian sel. Menurut Kvitek *et al.* (2008) AgNPs dapat melekat pada permukaan membran sel mengganggu sistem permeabilitas dan fungsi pernafasan sel. Hal itulah yang menyebabkan KAgNPs dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri *Bacillus subtilis*. Semakin kecil ukuran nanopartikel, maka luas permukaan yang memungkinkan untuk interaksi tersebut akan semakin besar sehingga sifat antibakterinya akan lebih baik dari AgNPs dengan ukuran besar (Kvitek *et al.*, 2008). Dari hasil penelitian ini dapat mengkonfirmasi penelitian sebelumnya bahwa AgNPs memiliki sifat antibakteri. Dengan demikian, AgNPs memiliki potensi yang besar dalam mengurangi bahkan menghambat pertumbuhan bakteri dalam pengawetan makanan dan pengobatan luka (Shukla *at al.*, 2012).

Uji aktivitas antijamur pada KAgNPs juga diuji secara kualitatif melalui adanya pertumbuhan jamur. Adanya agen pengkaping pada AgNPs akan membuat AgNPs lebih tahan terhadap desolusi oksidatif dalam pelarut air (Dobais and Bernier-Latmani, 2013). Pada penelitian ini agen pengkaping asam amino tirosin mampu mempertahankan kestabilan AgNPs dalam film nanokompositnya. Adanya kandungan perak dalam film tersebut menyebabkan lambatnya pertumbuhan jamur. Hal tersebut terbukti dengan pertumbuhan jamur baru mulai terlihat dalam waktu 6 minggu setelah preparasi KAgNPs seperti terlihat pada Gambar 11.

Ion Ag^+ akan membuat DNA kehilangan kemampuan untuk replikasi, hal tersebut menyebabkan tidak aktifnya subunit ribosom protein sehingga tidak dapat menghasilkan ATP, selain itu mengganggu rantai respirasi yang menyebabkan hilangnya integritas sel dan membuat toksik pada sel (Mendes *et al.*, 2014). Tumbuhnya jamur mulai terjadi pada waktu 6 minggu disebabkan karena perubahan ukuran partikel dan penurunan jumlah AgNPs pada nanokomposit film PLA sehingga menunjukkan ada titik pertumbuhan jamur pada film PLA AgNPs.



Gambar 11. KAgNPs setelah (a) 2 minggu, (b) 4 minggu, (c) 6 minggu, dan (d) 8 minggu

4. Kesimpulan

Tirosin dapat berperan sebagai reduktor dan agen pengkaping dalam sintesis AgNPs salah satunya ditandai dengan perubahan warna dari tidak berwarna menjadi kuning. pH sistem berpengaruh terhadap kemampuan tirosin dalam mereduksi ion perak. AgNPs

terbentuk pada keadaan basa dengan pH optimum 11. Konsentrasi optimum tirosin dalam sintesis nanopartikel perak adalah pada 1 mM dengan konsentrasi AgNO₃ 1 mM, sehingga didapatkan perbandingan konsentrasi asam amino tirosin dan AgNO₃ yaitu 1:1. Dari hasil spektrofotometer UV-Vis waktu reaksi optimum untuk mensintesis AgNPs terjadi pada menit ke empat puluh lima dengan suhu 100 °C. AgNPs yang disintesis menggunakan tirosin berpotensi untuk membentuk nanokomposit pada film poli asam laktat sebagai antibakteri.

Daftar Pustaka

- Aryal, Santosh, K.C., Remant Bahadur., Bhattarai, Narayan., Kim, Chul Ki., and Hak Yong., 2006, Study of electrolyte induced aggregation of gold nanoparticles capped by amino acids, *J. Colloid Interface Sci.*, 299, 191-197.
- Chowdhury, I.P., Ghosh, S., Roy, M., and Naskar, M.K., 2015, Green Synthesis of Water-Dispersible Silver Nanoparticles at Room Temperature Using Green *Carambola* (Star fruit) Extract, *J. Sl-Gel. Sci. Technol.*, 73, 199-207.
- Daima, H.K., Selvakannan, P.R., Kandjani, A.E., Shukla, R., Bhargava, S.K., and Bansal, V., 2014, Synergistic influence of polyoxometalate surface corona towards enhancing the antibacterial performance of tyrosine-capped Ag nanoparticles, *Nanoscale*, 6, 758–765.
- Dobais, J., and Bernier-Latmani, R., 2013, Silver Release from Silver Nanoparticles in Natural Waters, *Environ. Sci. Technol.*, 47: 4140-4146.
- Gimenez, B., Lopez de Lacey, A., Perez-Santín, E., Lopez-Caballero, M.E., and Montero, P., 2013, Release of active compounds from agar and agar-gelatin films with green tea extract, *Food Hyd.*, 30, 264–271.
- Gunsolus, I.L., Mousavi, M.P.S., Hussein, K., Bühlmann, P., and Haynes, C.L., 2015, Effects of Humic and Fulvic Acids on Silver Nanoparticle Stability, Dissolution, and Toxicity, *Environ. Sci. Technol.*, 49, 8078-8086.
- Guzmán, M.G., Dille, J., and Godet, S., 2009, Synthesis of Silver Nanoparticles by Chemical Reduction Method and Their Antibacterial Activity, *Int. J. Chem. Biol. Eng.*, 2(3), 104-111.
- Habbalalu, D., Lalley, J., Nadagouda, M.N., and Varma, R. S., 2013, Surface enhanced Raman scattering (SERS) studies of gold and silver nanoparticles prepared using plant extracts, enzymes, bacteria, biodegradable polymers, and microwaves, *Sust. Chem. & Eng.*, 1, 703–712.
- Korbekandi, H. & S. Irvani. 2012. *Silver Nanoparticles, The Delivery of Nanoparticles*. Editor A.A. Hashim. InTech.
- Kumar, A., Negi, Y.S., Choudhary, V., and Bhardwaj, N.K., 2014, Effect of modified cellulose nanocrystals on microstructural and mechanical properties of polyvinylalcohol/ovalbumin biocomposite scaffolds, *Mat. Lett.*, 129, 61–64.
- Kvitek, L., Panacek, A., Sukupova, J., Kolar, M., Veceroova, R., Pucek, R., Hlecova, M., and Zboril, R., 2008, Effect of Surfactants and Polymers on Stability and Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles (NPs), *J. Phys. Chem. C*, 112, 5825-5834.
- Magudapathy, P., Gangopadhyay, P., Panigrahi, B.K., Nair, K.G.M., and Dhara, S., 2001, Electrical transport studies of Ag nanoclusters embedded in glass matrix, *J. Phys. Chem. B*, 299, 142–146.
- Mailard, M., Giorgio, S., and Pileni, M.P., 2003, Tuning the Size of Silver Nanodisks with Similar Aspect Ratios: Synthesis and Optical properties, *J. Phys. Chem. B*, 107, 2466-2470.
- Mock, J.J., Barbic, M., Smith, D.R., Schultz, D.A., and Schultz, S., 2002, Shape Effects in Plasmon Resonance of Individual Colloidal Silver Nanoparticles, *J. Chem. Phys.*, 116, 6755-6759.
- Pinto, V.V., Ferreira, M.J., Silva, R., Santos, H.A., Silva, F., and Pereira, C.M., 2010, Long Time Effect on The Stability of Silver Nanoparticles in Aqueous Medium: Effect of The Synthesis and Storage Conditions, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, 364, 19-25.
- Prasad, S.B., 2013, Current Understanding of Synthesis and Pharmacological Aspects of Silver Nanoparticles, *Ame. J. of Phy. and Clin. The.*, 1(7): 536-547.
- Raffi, M.F., Hussain, T.M., Bhatti, J.I., Akhter, A., Hameed, and Hasan, M.M., 2008, Antibacterial Characterization of Silver Nanoparticles against *E. Coli* ATCC-15224, *J. Mater. Sci. Technol.*, 24: 192-196.

- Shankar, S., Chorachoo, J., Jaiswal, L., and Voravuthikunchai, S.P., 2014, The effect of reducing agent concentrations and temperature on characteristics and antimicrobial activity of silver nanoparticles, *Mat. Lett.*, 137, 160–163.
- Shankar, S., Jong, W.H., 2015, Amino acid mediated synthesis of silver nanoparticles and preparation of antimicrobial agar/silver nanoparticles composite films, *Carb. Poly.*, 353-363.
- Shukla, Mahendra, K., Ravindra, P.S., Reddy, C.R.K., and Bhavanath, J., 2012, Synthesis and characterization of agar-based silver nanoparticles and nanocomposite film with antibacterial applications, *Bio.Tec.*, 107, 295–300.
- Sondi, I., and Sondi, B.S., 2004, Silver Nanoparticles as Antimicrobial Agent: a Case Study on *E. coli* as a Model for Gram-Negative Bacteria, *J. Colloid Interface Sci.*, 275, 177-182.
- Tejamaya, M., Romer, I., Merrifield, R.C., and Lead, J.R., 2012, Stability of Citrate, PVP, and PEG Coated Silver Nanoparticles in Ecotoxicology Media, *Environ. Sci. Technol.*, 46, 7011-7017.
- Travan, A., Pelillo, C., Donati, I., Marsich, E., Benincasa, M., Scarpa, T., Semeraro, S., Turco, G., Gennaro, R., Paoletti, S., 2009. Non-cytotoxic silver nanoparticle polysaccharide nanocomposites with antimicrobial activity. *Biomacromolecules* 10, 1429–1435.
- Travan, A., Pelillo, C., Donati, I., Marsich, E., Benincasa, M., Scarpa, T., Semeraro, S., Turco, G., Gennaro, R., and Paoletti, S., 2009, Non-cytotoxic silver nanoparticle polysaccharide nanocomposites with antimicrobial activity, *Biomacromolecules*, 10, 1429–1435.
- Yoksan, R., and Chirachanchai, S., 2010, Silver nanoparticle-loaded chitosan-starch based films: Fabrication and evaluation of tensile, barrier, and antimicrobial properties, *Mat. Sci. and Eng. C*, 30, 891–897.