

**SINTESIS NANOPARTIKEL EMAS (AuNPs) BERTUDUNG TIROSIN
SEBAGAI SENSOR KOLORIMETRI BERBASIS AGREGASI
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli***

**SYNTHESIS OF GOLD NANOPARTICLES (AUNPS) WITH TYROSINE
CAPS AS AGGREGATION BASED COLORIMETRIC SENSORS
AGAINST *Escherichia coli* BACTERIA**

WAHIDA FEBRIYA RAMADHANI

H012191003



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2022

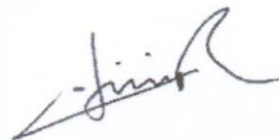
**SINTESIS NANOPARTIKEL EMAS (AuNPs) BERTUDUNG TIROSIN
SEBAGAI SENSOR KALORIMETRI BERBASIS AGREGASI
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli***

Disusun dan diajukan oleh

WAHIDA FEBRIYA RAMADHANI
NOMOR POKOK: H012191003

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal 03 Februari 2022
Dan dinyatakan memenuhi syarat

Menyetujui:
Komisi penasehat

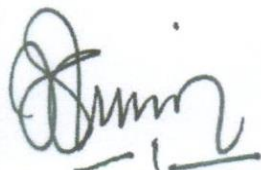


Dr. Abdul Karim, M.Si



Prof. Dr. Paulina Taba, M.Phil

Ketua Program Studi
Magister Kimia



Dr. Hasnah Natsir, MS.i

Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin



Dr. Eng Amiruddin, M.Si

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Wahida Febriya Ramadhani
Nim : H012191003
Program Studi : Kimia
Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

Sintesis Nanopartikel Emas (AuNPs) Bertudung Tirosin Sebagai Sensor Kolorimetri Berbasis Agregasi Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa Tesis yang saya tulis ini benar benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Tesis ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 4 Februari 2022

Yang menyatakan



(Wahida Febriya Ramadhani)

PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Segala puji bagi Allah Tuhan seluruh alam yang telah memberi sebaik-baik nikmat berupa Iman dan Islam yang Alhamdulillah masih diberikan pada diri kita. Shalawat serta salam tidak lupa kami kirimkan kepada Rasulullah Muhammad *shallallahu 'alaihi wasallam* sebagai khudwah terbaik sepanjang masa sebab atas perjuangan beliaulah sehingga kita masih bisa merasakan nikmatnya berislam sampai hari ini. Tidak lupa pula kita kirimkan kepada keluarga beliau, sahabat, sahabiyah, tab'in, atba'ut-tabi'in dan orang-orang yang selalu istiqamah di jalan addinul islam ini hingga qadar Allah berlaku atas diri mereka. Alhamdulillah, penulis dapat menyelesaikan tesis ini yang berjudul **“Sintesis Nanopartikel Emas (AuNPs) Bertudung Tirosin Sebagai Sensor Kolorimetri Berbasis Agregasi terhadap Bakteri *Escherichia coli*”** sebagai salah satu syarat mendapatkan gelar magister sains Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

Pertama dari yang paling utama, melalui lembaran ini penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Allah SWT yang telah memberikan kesempatan dan kesehatan melanjutkan studi magister hingga menyelesaikan tesis ini. Kemudian ucapan terima kasih

dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada Bapak **Dr. Abdul Karim, M.Si** selaku Pembimbing Utama dan penasehat akademik serta Ibu **Dr. Paulina Taba, M.Phill** selaku Pembimbing Pertama, yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing dan memberikan ilmu yang begitu berharga serta ucapan maaf atas segala kesalahan selama persiapan penelitian sehingga penulis bisa menyelesaikan tesis ini. Ucapan terima kasih juga kepada:

1. Ketua Pascasarjana Magister Kimia, Ibu **Dr. Hasnah Natsir, M.Si** dan seluruh Dosen yang telah membagi ilmunya serta staf Departemen Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Hasanuddin. Terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya.
2. Tim Penguji Ujian Magister Kimia, **Prof. Dr. Abd. Wahid Wahab, M.Sc, Prof. Ahyar Ahmad, Ph.D** dan Bapak **Dr. Maming, M.Si**. Terima kasih atas bimbingan dan saran-saran yang diberikan.
3. Orang tua **Hj. Rugayyah** dan kakak-kakakku tercinta, terima kasih untuk dukungan doa dan motivasi yang selalu diberikan.
4. Teman Hidup, **Muh. Shiddiq Maming, S.Si**. terima kasih untuk selalu mendukung terutama dari segi ilmu serta doa yang diberikan agar penulis dapat menyelesaikan studi magister.
5. Seluruh analis laboratorium di Departemen Kimia FMIPA, Universitas Hasanuddin. Terima kasih atas bantuan yang diberikan selama penelitian.

6. Seluruh analis laboratorium di Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar: **Kak Fitriani Aziz, Kak Ismawanti, Kak Rahma, Kak Aini dan Kak Awaluddin**, terima kasih atas bantuan yang diberikan selama penelitian.
7. Kawan-kawan Magisterku, **OXS19EN**, terima kasih atas semua dukungan, semangat dan persahabatan yang telah kalian berikan selama ini.
8. Teman-teman terdekatku, **Faridatun Sholehah, Nurul Riski Arini, Bahrun, A. Fahcrunnisa, Azmalaeni Rifkah** dan “**Grup Penghuni Surga**”, terima kasih atas motivasi dan pengalaman berharga selama menempuh perkuliahan mencapai gelar magister
9. Terima kasih untuk seluruh pihak yang banyak ikut berkontribusi membantu penulis selama menempuh studi magister yang tidak sempat disebut namanya satu persatu

Penulis sadar bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritikan dan saran yang bersifat membangun dari berbagai pihak. Akhirnya, penulis berharap semoga tesis ini dapat memberikan manfaat kepada para peneliti selanjutnya.

Makassar, Februari 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	vii
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Sensor Kolorimetri	8
B. Nanopartikel emas	9
C. Faktor Pembentukan Nanopartikel emas	12
1. Metode Sintesis Nanopartikel emas	12
2. pH	13
3. Konsentrasi	14
4. Waktu Reaksi	15
D. Agregasi	15
E. Tirosin	18

F. Asam Askorbat	20
G. Bakteri <i>Escherichia coli</i>	21
H. Bakteri <i>Salmonella typhi</i>	24
I. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	26
J. Karakterisasi	28
1. Spektroskopi UV-Vis	28
2. Spektroskopi FTIR (<i>Fourier Transform InfraRed</i>)	29
3. <i>Particle Size Analyzer</i> (PSA)	30
4. <i>Transmission Electron Microscopy</i> (TEM)	31
K. Uji Selektivitas	32
L. Kerangka Pikir	32
M. Hipotesis	36
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
A. Tempat dan Waktu Penelitian	37
B. Alat dan Bahan Penelitian	37-38
C. Prosedur Penelitian	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Tahap sintesis nanopartikel emas	44
B. Karakterisasi nanopartikel emas dan nanopartikel emas-tirosin	45
1. Karakterisasi menggunakan FTIR	45
2. Karakterisasi menggunakan TEM	48
3. Karakterisasi menggunakan PSA	52
C. Optimasi konsentrasi, pH, waktu reaksi dan kestabilan tirosin terhadap nanopartikel emas	54
D. Tahap aplikasi mendeteksi bakteri <i>E. coli</i>	60
E. Uji selektivitas sensor terhadap bakteri <i>Salmonella typhi</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , natrium klorida (NaCl) (CaCl ₂), magnesium klorida (MgCl ₂), seng klorida (ZnCl ₂), besi(III) klorida (FeCl ₃) berbasis agregasi.	64

BAB V PENUTUP

A. Kesimpulan	69
B. Saran	70
Daftar Pustaka	71
Lampiran	89

ABSTRAK

WAHIDA FEBRIYA RAMADHANI. Sintesis Nanopartikel Emas (Aunps) Bertudung Tirosin Sebagai Sensor Kolorimetri Berbasis Agregasi Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi secara kolorimetri adanya bakteri *E. coli* secara langsung menggunakan sensor nanopartikel emas bertudung tirosin. Penelitian diawali dengan nanopartikel emas (AuNPs) disintesis menggunakan asam askorbat menggunakan metode reduksi dengan perbandingan mol HAuCl_4 : mol asam askorbat yaitu 1:4. Peningkatan stabilitas AuNPs dengan adanya agen penudung tirosin (AuNPs-Tirosin) membantu meningkatkan sensitivitas dalam mendeteksi bakteri *E. coli*. Karakterisasi nanopartikel emas dan nanopartikel emas bertudung tirosin dilakukan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis, *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR), *Transmission Electron Microscope* (TEM) dan *Particle Size Analyzer* (PSA). Aplikasi AuNPs-Tirosin deteksi *E. coli* didasarkan atas interaksi yang terjadi antara AuNPs-Tirosin dan *E. coli* yang diamati dari pergeseran panjang gelombang ke arah batokromik menyebabkan terjadinya perubahan warna AuNPs dari merah menjadi berwarna biru (agregasi). Interaksi yang terjadi antara AuNPs-Tirosin terhadap lipopolisakarida yang terdapat pada dinding luar sel bakteri *E. coli* yaitu interaksi elektrostatik yang ditandai dengan adanya serapan pada $378,05 \text{ cm}^{-1}$ yang mengindikasikan adanya interaksi kuat antara nanopartikel emas-tirosin dengan *E. coli*. AuNPs-Tirosin mempunyai limit batas deteksi (LoD) dalam mendeteksi *E. coli*, yaitu anti 27,54 CFU/mL lebih kecil dibandingkan dengan nanopartikel emas dalam mendeteksi bakteri *E. coli*, yaitu 33,11 CFU/mL dan nilai agregasi yang diperoleh adalah 1,08. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa nanopartikel emas bertudung tirosin dapat digunakan sebagai sensor kolorimetri untuk mendeteksi adanya bakteri *E. coli* berbasis agregasi.

Kata kunci: Nanopartikel emas, asam askorbat, tirosin, sensor kolorimetri dan bakteri *E. coli*

ABSTRACT

WAHIDA FEBRIYA RAMADHANI. Synthesis of Gold Nanoparticles (Aunps) with Tyrosine Caps as Aggregation-Based Colorimetric Sensors Against *Escherichia coli* Bacteria

This study aims to detect colorimetrically the presence of *E. coli* bacteria directly using a tyrosine-hooded gold nanoparticle sensor. The research began with gold nanoparticles (AuNPs) synthesized using ascorbic acid using a reduction method with a mole ratio of HAuCl_4 : moles of ascorbic acid, which is 1:4. The increased stability of AuNPs in the presence of a tyrosine capping agent (AuNPs-Tyrosine) helps to increase the sensitivity in detecting *E. coli* bacteria. The characterization of gold nanoparticles and tyrosine-hooded gold nanoparticles was carried out using a UV-Vis Spectrophotometer, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Transmission Electron Microscope (TEM), and Particle Size Analyzer (PSA). The application of AuNPs-Tyrosine to detect *E. coli* has based the interaction between AuNPs-Tyrosine and *E. coli*, which is observed from a shift in wavelength towards bathochromic causing a change in the color of AuNPs from red to blue (aggregation). The interaction that occurs between AuNPs-Tyrosine and lipopolysaccharide found on the outer wall of *E. coli* bacterial cells is an electrostatic interaction characterized by absorption at 378.05 cm^{-1} , which indicates a strong interaction between gold-tyrosine nanoparticles to *E. coli*. AuNPs-Tyrosine has a detection limit (LoD) in detecting *E. coli*, which is anti 27.54 CFU/mL, which is smaller than gold nanoparticles in detecting *E. coli* bacteria, 33.11 CFU/mL, and the aggregation value obtained is 1.08. The results obtained indicate that the tyrosine-hooded gold nanoparticles can be used as colorimetric sensors to detect the presence of aggregation-based *E. coli* bacteria.

Keywords: Gold nanoparticles, ascorbic acid, tyrosine, colorimetric sensor and *E. coli* bacteria

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tabel Jenis Pereduksi dalam Mensintesis Nanopartikel Emas	11
2. Tabel Data optimasi Konsentrasi Tirosin Terhadap Nanopartikel emas	55
3. Tabel Data optimasi pH Tirosin Terhadap Nanopartikel emas	56
4. Tabel Data optimasi Waktu Reaksi Tirosin Terhadap Nanopartikel emas	58
5. Tabel Data Uji Kestabilan Tirosin Terhadap Nanopartikel emas	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Skema Struktur dari Nanopartikel emas	9
2. Kontribusi Penyerapan Optik Transisi Interband pada Nanopartikel emas	10
3. Skema Sintesis Nanopartikel <i>Top-down</i> dan <i>Bottom-up</i>	12
4. Skema Representasi Crosslink Nanopartikel emas-APA yang menunjukkan adanya perubahan pH	14
5. Skema lapisan ganda dalam koloid yang berinteraksi dengan muatan negatif	16
6. Skema Mekanisme Reduksi Ag ⁺ menjadi Ag ⁰ bersamaan dengan oksidasi Gugus Fenolik L-Tirosin menjadi Gugus Quinon	18
7. Skema Keterikatan Tirosin dengan Nanopartikel emas	19
8. Mekanisme reaksi pembentukan nanopartikel perak tanpa dan dengan sinar radiasi	20
9. Morfologi Bakteri <i>Escherichia coli</i>	22
10. Piring Agar Mengandung Formulasi Nanopartikel emas muncul Diameter Penghambatan Zona Untuk <i>E. coli</i> (a) tidak diberikan Nanopartikel emas, Kontrol dan Sel yang Dirawat (b) Diameter Zona Penghambatan bias Terlihat Jelas	23
11. (a) Hasil mikroskop bakteri <i>Salmonella Typhi</i> berbentuk batang dimedia IMViC (Ulya dan Widyawati, 2020), (b) bentuk bakteri <i>Salmonella typhi</i> dilihat menggunakan TEM	25
12. (a) Hasil deteksi bakteri <i>S. aureus</i> menggunakan mikroskop fluoresens bidang terang (b) Hasil deteksi bakteri <i>S. aureus</i> menggunakan mikroskop fluoresens bidang fluoresens	26
13. Hasil deteksi interaksi Aptamer-Nanopartikel emas dengan bakteri <i>S. aureus</i> menggunakan SEM	27

14. Spektrum UV-Vis nanopartikel emas sebelum (warna merah) dan setelah penambahan sitrat	29
15. Spektrum FTIR Nanopartikel Emas hasil reduksi dari ekstrak daun sativa	30
16. Ukuran Nanopartikel emas mulai dari 5 nm hingga 400 nm hasil Proyeksi TEM dengan Koefisien Variasi <8%	31
17. Bagan kerangka pikir penelitian	35
18. Spektrum Spektrofotometri UV-Vis nanopartikel emas	44
19. Spektrum spektrofotometri FTIR nanopartikel emas, nanopartikel emas, tirosin dan nanopartikel emas-tirosin	47
20. (a) Bentuk nanopartikel emas dengan perbesaran 50 nm menggunakan TEM. (b) Bentuk nanopartikel emas bertudung tirosin dengan perbesaran 50 nm menggunakan TEM	48
21. Grafik penyebaran ukuran diameter nanopartikel emas	49
22. Grafik penyebaran luas permukaan nanopartikel emas	49
23. Grafik penyebaran volume nanopartikel emas	50
24. Grafik penyebaran ukuran diameter nanopartikel emas bertudung tirosin	50
25. Grafik penyebaran ukuran luas permukaan nanopartikel emas bertudung tirosin	51
26. Grafik penyebaran ukuran volume nanopartikel emas bertudung tirosin	51
27. Distribusi ukuran nanopartikel emas berdasarkan frekuensi dengan alat PSA	52
28. Distribusi ukuran nanopartikel emas bertudung tirosin berdasarkan frekuensi dengan alat PSA	53
29. Spektrum spektrofotometri UV-Vis optimasi konsentrasi tirosin terhadap nanopartikel emas	54

30. Spektrum spektrofotometri UV-Vis optimasi pH tirosin terhadap nanopartikel emas	57
31. Spektrum spektrofotometri UV-Vis optimasi waktu reaksi tirosin terhadap nanopartikel emas	57
32. Spektrum spektrofotometri UV-Vis kestabilan tirosin terhadap nanopartikel emas	59
33. Spektrum spektrofotometri UV-Vis nanopartikel emas-tirosin dalam mendeteksi bakteri <i>E. coli</i> 10^{-6} – 10^{-1}	61
34. Spektrum spektrofotometri UV-Vis nanopartikel emas dalam mendeteksi bakteri <i>E. coli</i> 10^{-6} – 10^{-1}	62
35. Ilustrasi interaksi nanopartikel emas bertudung tirosin dengan lipopolisakarida pada dinding sel bakteri <i>E. coli</i>	63
36. Spektrum spektrofotometer UV-Vis pada uji selektifitas sensor terhadap bakteri <i>E. coli</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>S. aureus</i>	64
37. Ilustrasi interaksi nanopartikel emas bertudung tirosin dengan asam lipoteikoat pada dinding sel bakteri gram positif	65
38. Spektrum spektrofotometer UV-Vis pada larutan natrium klorida (NaCl), (CaCl ₂), magnesium klorida (MgCl ₂), seng klorida (ZnCl ₂), besi(III) klorida (FeCl ₃)	66
39. Spektrum spektrofotometer FTIR pada uji selektivitas sensor terhadap bakteri <i>E. coli</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>S. aureus</i>	67

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan kerja	89
2. Dokumentasi	95
3. Karakterisasi Spektrofotometer UV-Vis	100
4. Karakterisasi Spektrofotometer FTIR	128
5. Karakterisasi Spektrofotometer PSA	134
6. Karakterisasi Spektrofotometer TEM	136
7. Data TEM Nanopartikel emas dan nanopartikel emas- tirosin	138
8. Perhitungan limit deteksi	140
9. Perhitungan nilai agregasi	143

DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/Singkatan	Arti
AuNPs	Nanopartikel Emas
SPR	<i>Surface Plasmon Resonance</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
pH	<i>Power of Hidrogen</i>
FTIR	<i>Fourier Transform InfraRed</i>
APA	<i>Asam Poliakrilat</i>
UV-Vis	<i>Ultraviolet Visible</i>
PSA	<i>Particle Size Analyzer</i>
TEM	<i>Transmission Electron Microscopy</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
HAuCl ₄	Asam Tetrakloroaurit (III)
IMViC	<i>Indol, Methyl red, Voges, Citrat</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus Aureus</i>
LPS	Lipopolisakarida

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Limbah pada lingkungan perairan dapat berupa limbah kimia dan biologi. Salah satu limbah biologi adalah bakteri patogen yang dapat berasal dari pembuangan kotoran seperti bakteri *Escherichia coli* (Gupta dkk., 2016). Infeksi akibat dari bakteri *E. coli* di Indonesia telah banyak terjadi. Suprihatin dkk. (2013) mengemukakan bahwa ada 10 kota besar di Indonesia di mana 16% sampel airnya tercemar bakteri koliform seperti *E. coli*, untuk itu diperlukan metode dalam mendeteksinya.

Metode dalam mendeteksi adanya bakteri *E. coli* telah banyak dikembangkan diantaranya, yaitu metode media kultur (Supriatin, dkk., 2020; Enam dan Mansell, 2018; Wurm dkk., 2017; Natarajan dkk., 2017; Lee dkk., 2016), uji IMViC (Kartikasari dkk., 2019; Le dkk., 2015; Khan dkk., 2015) dan metode PCR (Clark dkk., 2017; Godambe dkk., 2017; Nguyen dkk., 2016; Van Giau dkk., 2016; Molina dkk., 2015; Radji dkk., 2010). Namun, metode-metode tersebut membutuhkan waktu yang relatif lama (Li dkk., 2020; Molina dkk., 2015), sehingga dibutuhkan metode yang lebih efektif yaitu, mudah dan cepat. Seiring perkembangan sains dan teknologi metode modifikasi telah dikembangkan dalam mendeteksi bakteri dengan menggunakan nanopartikel (Suriadi dkk., 2020).

Nanopartikel merupakan material yang memiliki ukuran 1-100 nm (Sato dkk., 2007). Ukuran partikel yang kecil membuat nanopartikel bersifat lebih reaktif sehingga atom-atomnya dapat bersentuhan langsung dengan material lain (Abdullah dkk., 2008) dan dapat dimanfaatkan untuk menyusun material dengan sifat atau fungsi yang baru. Nanopartikel memiliki sifat yang khas yaitu: sifat elektromagnetik, katalitik, elektrokimia dan plasmonik (Taei dkk., 2015). Pemanfaatan nanopartikel telah banyak digunakan sebagai antibakteri (Hua dkk., 2018; Prasetiowati dkk., 2018; Zhang dkk., 2019), katalis (Zhang dkk., 2017; Kurniawan dan Muraza, 2018; Naoe dkk., 2016), semikonduktor (Cardoso dkk., 2017; Ningsih dkk., 2017; Astanpenko dkk., 2016), absorben (Wei dkk., 2011) dan bahan penyusun sensor (Leifer dkk., 2020; Suriadi dkk., 2020; Khan dkk., 2019; Arif dkk., 2018; Barman dkk., 2018), yaitu terdiri dari nanopartikel yang ditambahkan senyawa untuk meningkatkan sensitifitasnya (Srinivasan dkk., 2017; Mirzaei dkk., 2016; Khan dkk., 2015).

Sensor adalah sistem yang memiliki kemampuan dalam mendeteksi perubahan dari suatu energi seperti energi listrik, energi fisika, energi kimia, energi biologi (Hulanicki dan Ingman, 1991), saat ini dikembangkan menggunakan nanopartikel seperti nanopartikel emas. Nanopartikel emas memiliki karakteristik yang lebih unggul dibandingkan nanopartikel lainnya. Nanopartikel emas mampu menghantarkan dan menerima gelombang elektromagnetik (Chen dkk., 2014) serta memiliki sifat penyerapan *Surface Plasmon Resonance* (SPR) yang kuat (Dvorak dkk., 2021; Pan dkk., 2019; Kurrey dkk., 2019; Wu dkk., 2017; Matsishin

dkk., 2017; Cao dkk., 2017). Nanopartikel emas umumnya diperoleh dengan cara sintesis *in-situ* yaitu mereduksi HAuCl_4 dengan asam sitrat (Wikantyasning, 2015; Suriadi dkk., 2020). Tyagi (2011) dengan asam askorbat sebagai pereduksi untuk menghasilkan nanopartikel emas dengan kestabilan 1 bulan dan diperoleh ukuran partikel yaitu 30-40 nm. Ahnur (2019) menggunakan reduktor yang sama dan memperoleh ukuran nanopartikel emas sebesar 20-40 nm dengan kestabilan 2 minggu. Penggunaan asam askorbat dalam penelitian ini, dapat menjadi reduktor yang baik dan stabil dalam mensintesis nanopartikel emas.

Nanopartikel emas memiliki kecenderungan untuk mengalami agregasi disebabkan adanya gaya tarik Van der Waals, sehingga untuk mencegah terjadinya agregasi diperlukan agen penudung (Suriadi dkk., 2020). Proses agregasi dapat dihindari dengan adanya penambahan tudung (Iswarya dkk., 2016) baik berupa karbohidrat atau protein (asam amino) (Suriadi dkk., 2020). Menurut Zang dkk. (2013), syarat suatu material dapat digunakan sebagai agen pengkaping atau penudung adalah memiliki gugus karboksil dan gugus amina. Asam amino banyak digunakan sebagai pengkaping karena senyawa ini bersifat amfoter yang secara umum memiliki dua gugus yang dapat terprotonasi maupun deprotonasi sehingga dapat diatur (Suriadi dkk., 2020). Asam amino tirosin merupakan salah satu asam amino yang memiliki satu gugus asam yaitu, gugus karboksilat ($-\text{COOH}$), satu gugus basa yaitu, gugus amina ($-\text{NH}_2$) dan satu gugus fenol (PhOH) (Kibet dkk., 2013). Struktur tersebut

berpotensi untuk menginduksi elektron ketika berdekatan dengan permukaan nanopartikel emas dan membentuk interaksi elektrostatik, sehingga dapat dijadikan sebagai sensor kolorimetri (Dubey dkk., 2015).

Sensor kolorimetri berbasis nanopartikel emas telah banyak diaplikasikan dalam mendeteksi ion logam seperti Cr^{3+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} (Wyantuti S dkk., 2017), Fe^{3+} (Agustina dkk., 2019; Zhu dkk., 2017), Co^{2+} (Deymehkar dkk., 2018), Ag^+ (Liu dkk., 2010), Hg^{2+} (Wang dkk., 2016), Pb^{2+} (Ustundag dkk., 2016). Sensor kolorimetri memiliki beberapa keuntungan. Sensor ini lebih sensitif dan cepat serta perubahan warna dapat dilihat secara langsung (Suriadi dkk., 2020). Sensor secara kolorimetri juga dapat mendeteksi bakteri patogen *E. coli* (Jahnke dkk., 2019; Wang dkk., 2008). Lutfiah dkk. (2020) menggunakan penudung sitrat dalam mendeteksi bakteri *E. coli*. Penelitian lainnya dilakukan oleh Suriadi (2020) yang telah berhasil mendeteksi bakteri *E. coli* secara kolorimetri dengan adanya penambahan agen penudung metionin yang menghasilkan perubahan warna merah (warna khas nanopartikel emas) menjadi warna biru keunguan (Espinosa dkk., 2018). Perubahan warna tersebut disebabkan oleh adanya peristiwa agregasi (Suriadi dkk., 2020).

Agregasi dapat terjadi jika terjadi penurunan jarak antar partikelnya dan mengubah sifat optiknya sehingga terjadi pergeseran merah dari *plasmon band* yang menghasilkan warna menjadi biru-keunguan (Zhou dkk., 2012). Proses agregasi menyebabkan terbentuknya klaster yang lebih besar karena interaksi gugus amina yang bermuatan positif dari

nanopartikel emas yang bertudung tirosin diharapkan mampu berinteraksi elektrostatik dengan lapisan membran terluar dari bakteri *E. coli* yaitu pada bagian lipopolisakarida yang bermuatan negatif (Raj dkk., 2015). Informasi penelitian tentang nanopartikel emas sebagai pendeteksi *E. coli* sejauh ini masih sedikit, sehingga terdorong untuk meneliti dengan memanfaatkan asam amino tirosin sebagai agen penudung yang dimungkinkan dapat berinteraksi dengan nanopartikel emas sebagai sensor kolorimetri berbasis agerasi dalam mendeteksi adanya interaksi dengan bakteri *E. coli*. Pengujian selektivitas sensor nanopartikel emas bertudung tirosin terhadap bakteri *E. coli* dapat dilakukan dengan membandingkannya terhadap bakteri gram positif seperti *S. aureus* serta terhadap larutan garam berdasarkan perbandingan nilai agregasinya (Raj dkk., 2015) sehingga diperoleh perbedaan antara sensor nanopartikel emas dalam mendeteksi bakteri *E. coli* dengan bakteri lainnya.

B. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini yaitu:

1. berapa perbandingan mol optimum asam askorbat dengan asam tetrakloroaurat (HAuCl_4) dalam mensintesis nanopartikel emas?
2. bagaimana karakteristik nanopartikel emas dan nanopartikel emas bertudung tirosin?
3. bagaimana pengaruh pH, konsentrasi dan waktu reaksi optimum penambahan tirosin pada nanopartikel emas?

4. bagaimana pengaruh penudung tirosin terhadap kemampuan sensor kolorimetri nanopartikel emas dalam mendeteksi bakteri *E. coli*?
5. bagaimana uji selektivitas sensor nanopartikel emas-tirosin dengan membandingkan uji terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *S. aureus* serta terhadap (NaCl), kalsium klorida (CaCl_2), magnesium klorida (MgCl_2), seng klorida (ZnCl_2), besi(III) klorida (FeCl_3) berbasis agregasi?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan pada penelitian ini yaitu:

1. menentukan perbandingan mol optimum asam askorbat dengan asam tetrakloroaurat (HAuCl_4) dalam mensintesis nanopartikel emas.
2. menentukan karakteristik nanopartikel emas dan nanopartikel emas bertudung tirosin.
3. menentukan pengaruh pH, konsentrasi dan waktu reaksi optimum penambahan tirosin pada nanopartikel emas.
4. menentukan pengaruh penudung tirosin terhadap kemampuan sensor kolorimetri nanopartikel emas dalam mendeteksi bakteri *E. coli*.
5. menguji selektivitas sensor nanopartikel emas-tirosin dengan membandingkan uji terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *S. aureus* serta terhadap (NaCl), kalsium klorida (CaCl_2), magnesium klorida (MgCl_2), seng klorida (ZnCl_2), besi(III) klorida (FeCl_3) berbasis agregasi?

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini yaitu:

1. memberikan informasi terhadap peneliti lainnya yang akan meneliti dibidang yang sama, yaitu nanopartikel emas.
2. memberikan informasi mengenai kemampuan nanopartikel emas bertudung tirosin dalam mendeteksi bakteri *E. coli* secara kolorimetri.
3. memberikan informasi terkait uji selektivitas sensor nanopartikel emas-tirosin terhadap bakteri *E. coli*, *Salmonella typhi* dan *S. aureus* berdasarkan perbandingan agregasi.
4. diharapkan produk sensor nanopartikel emas dapat membantu untuk bidang kesehatan maupun pangan dalam mendeteksi adanya bakteri *E. coli*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Sensor kolorimetri

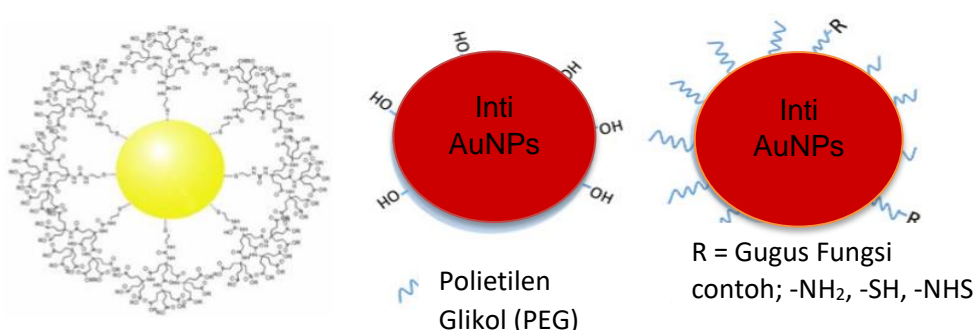
Sensor adalah sistem yang memiliki kemampuan dalam mendeteksi perubahan dari suatu energi. Sensor terbagi atas 2 yaitu, sensor fisik dan sensor kimia. Sensor kimia adalah perangkat yang mengubah informasi kimia, mulai dari konsentrasi komponen sampel tertentu hingga analisis komposisi total dan menjadi sinyal yang berguna secara analitis (Hulanicki dan Ingman, 1991). Secara umum berdasarkan fungsi dan penggunaannya sensor dapat dikelompokkan menjadi 3 bagian yaitu sensor mekanis (Syaputra dkk., 2021), sensor thermal (panas) (Kalinichev dkk., 2021) dan sensor optik atau cahaya (Mahesa, 2021). Sensor optik atau cahaya menggunakan indikator perubahan warna yang terjadi atau disebut juga sensor kolorimetri (Suriadi dkk., 2020).

Sensor kolorimetri memiliki beberapa keuntungan sensor ini lebih efektif dalam menentukan kuantitas ukuran zat yang sangat kecil disebabkan oleh mudahnya zat tersebut mengalami induksi perubahan warna (Thiha dan Ibrahim, 2015). Saat ini sensor tersebut mulai banyak dikembangkan oleh peneliti dengan mengembangkan nanomaterial sebagai alat sensornya. Hal tersebut disebabkan oleh sensitivitas yang baik terhadap perubahan warna pada nanopartikel. Umumnya, nanopartikel memiliki ukuran berkisar 1-100 nm dan saat ini, penelitian

untuk nanopartikel perak dan emas telah banyak dikembangkan. Nanopartikel emas lebih banyak dikembangkan, karena nanopartikel ini mampu menghantarkan dan menerima gelombang elektromagnetik, sehingga dalam pengaplikasiannya, nanopartikel ini dapat digunakan sebagai pendukung sensor kolometri (Chen dkk., 2014; Cao dkk., 2017). Selain itu, dibandingkan dengan nanopartikel perak, nanopartikel emas memiliki kestabilan yang lebih baik (Suriadi dkk., 2020).

B. Nanopartikel emas

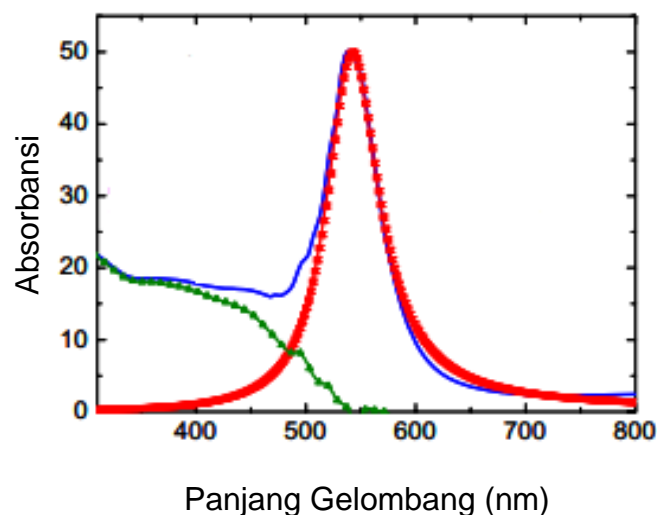
Nanopartikel emas dapat diaplikasikan dalam berbagai bidang, seperti bidang optik, elektronik, sensor (Babayi dkk., 2004), bidang kedokteran sebagai *Drug Delivery* (Rohman dan Rebrov, 2014), sebagai antibakteri (Cui, 2012) dan mendeteksi DNA (Kumar, dkk., 2011; Mazumdar dkk., 2017). Gambar struktur nanopartikel emas diberikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema Struktur dari Nanopartikel emas (Suriadi, dkk., 2020).

Nanopartikel emas memiliki sifat yang lebih baik dibandingkan dengan nanopartikel lainnya, karena sifat stabilitas yang baik, biokompatibilitas (toksisitas rendah) dan sifat optik serta elektronik yang

mudah diatur yang mampu mendukung penggunaan nanopartikel emas dalam mengalisis dengan cepat (Chen dkk., 2014). Adanya sensitivitas yang tinggi, menjadikan nanopartikel emas dimanfaatkan menjadi biosensor. Sifat khusus lainnya dari nanopartikel emas ialah adanya *Surface Plasmon Resonance* (SPR). Sifat dari SPR ditunjukkan pada penyerapan sinar tampak (*Visible*), di mana interaksi resonan dari band elektron akan terjadi pada permukaan nanopartikel (Kvasnicka dan Homola, 2008). Peristiwa SPR memungkinkan untuk memperkuat, memusatkan dan memanipulasi cahaya pada skala nano, mengatasi batas difraksi optik dan meningkatkan resolusi serta sensitivitas. Jika pita SPR terlihat pada bagian spektrum di daerah 360-720 nm (Garcia, 2011), ukuran partikel logam akan memiliki diameter di bawah 50 nm. Semakin kecil ukuran partikel maka akan membuat sifat optik biasanya dapat dimodifikasi yang dapat dilihat pada Gambar 2 (Barnes dkk., 2003).



Gambar 2. Kontribusi penyerapan optik transisi interband pada nanopartikel emas (Barnes dkk., 2003).

Proses sintesis nanopartikel emas memegang peranan penting untuk memperoleh ukuran partikel nano (Rahme dan Holmes, 2015). Peneliti tersebut menggunakan dua macam pereduksi yaitu natrium borohidrat dan natrium sitrat. Sintesis yang menggunakan natrium borohidrat menghasilkan nanopartikel dengan ukuran 4 nm sedangkan sintesis dengan menggunakan natrium sitrat menghasilkan nanopartikel dengan ukuran 15 dan 30 nm. Jenis pereduksi yang digunakan dalam mensintesis nanopartikel emas diberikan pada Tabel 1.

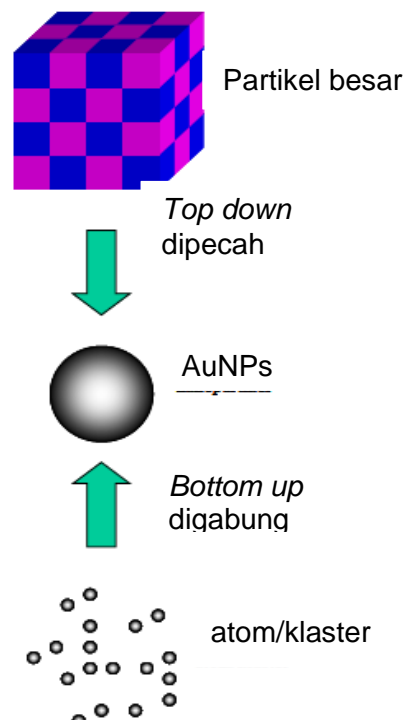
Tabel 1. Jenis-jenis pereduksi yang telah digunakan dalam mensintesis nanopartikel emas

No	Reduktor	Aplikasinya	Ukuran Partikel	Referensi
1.	Sitrat	Sensor bakteri <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) secara kolorimetri	18,4 nm	Lutfiah dkk., 2020
2.	Asam Glutamat	Film Antibakteri	40 nm	Nadhifah dkk., 2020
3.	Natrium Sitrat	Sensor bakteri <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) secara kolorimetri berkaping metionin	40,6 nm	Suriadi dkk., 2020
4.	L-Asam Askorbat	Tambahan penudung Asam pAminobenzoat sebagai pendeteksi Cr (III) dan Cr (VI) secara kolorimetri dalam sampel air	20-40 nm	Annur dkk., 2019.
5.	Asam Glutamat	Agen anti bakteri	31,2 nm	Isnaini dkk., 2018

C. Faktor yang mempengaruhi pembentukan Nanopartikel Emas

1. Metode sintesis nanopartikel emas

Sintesis nanopartikel berfasa cair, padat dan gas dapat dilakukan secara kimia dan fisika maupun biosintesis. Gambar 3 menjelaskan pendekatan umum dalam mensintesis nanopartikel. Sintesis nanopartikel terdiri atas dua cara, cara pertama, partikel yang berukuran besar dipecah menjadi partikel yang berukuran kecil dalam skala nanometer (pendekatan *top down*) dan cara kedua, pendekatan *bottom up*. Pada pendekatan ini, molekul-molekul bergabung untuk membentuk partikel yang diinginkan (tapi masih dalam skala nanometer) (Abdullah, 2008).



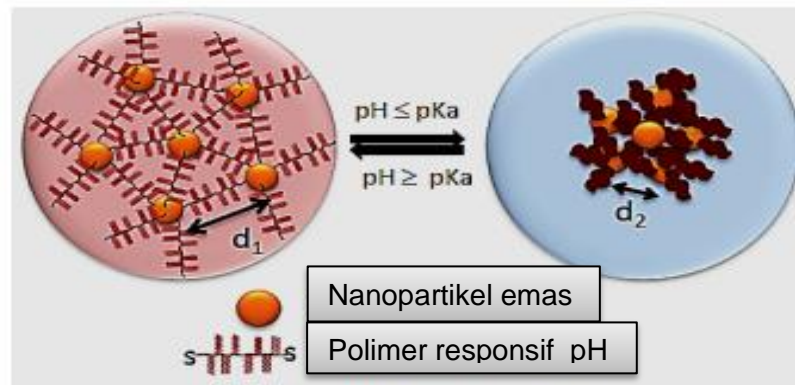
Gambar 3. Skema sintesis nanopartikel *top-down* dan *bottom-up* (Haryono dkk., 2008).

Sintesis dengan proses fisika dapat dilakukan dengan cara iradiasi dengan gelombang mikro (Gedanken, 2007), metode sonokimia (Jin Y dkk., 2007), radiasi ultraviolet (Abyaneh dkk., 2007), termolitik (Giorgetti dkk., 2007) dan fotokimia (Nakamoto dkk., 2002). Sintesis dengan proses kimia menggunakan bantuan bahan kimia berupa sitrat atau natrium sitrat sebagai agen pereduksi (Mandal dkk., 2002). Penggunaan sitrat sebagai pereduksi dengan variasi konsentrasi yang kecil dan terkontrol, akan mendapatkan nanopartikel dengan ukuran yang baik (Brush M dkk., 1994-1995). Sejauh ini, metode kimia masih menjadi pilihan utama karena proses pengerjaannya yang mudah dan cepat, sehingga agen pereduksi mampu mereduksi Au^{3+} menjadi Au^0 . Agen pereduksi umum yang sering digunakan yaitu, asam sitrat (Suriadi dkk., 2020), trisodium sitrat (Setiawan dkk., 2014) dan asam askorbat (Meileza dkk., 2018).

2. pH

pH merupakan faktor lain yang berperan penting dalam pembentukan nanopartikel emas dari pereduksi dan pH dari agen penudung. Warna pada nanopartikel emas dipengaruhi oleh pH. Perubahan warna yang terjadi saat pH dinaikkan atau diturunkan hingga melewati harga pKa dari pereduksi akan menyebabkan nanopartikel terdeagregasi atau teragregasi pengembangan atau pengkerutan polimer responsif pH berulang kali. Gambar 4 menunjukkan adanya perubahan warna dari merah menjadi biru pada sintesis nanopartikel. Adanya penambahan dari asam poliakrilat (APA) menyebabkan nanopartikel emas

stabil karena adanya interaksi antar nanopartikel emas dengan APA sehingga memberikan jarak antar nanopartikel emas untuk menghindari terjadinya agregasi lebih cepat (Wikantyasning dkk., 2015).



Gambar 4. Skema representasi persilangan nanopartikel emas-APA yang menunjukkan perubahan warna dengan adanya perubahan pH.

3. Konsentrasi

Secara umum, menurut teori ukuran klaster, nanopartikel emas akan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi larutan emas. Hal tersebut dibuktikan oleh Amiruddin (2013) yang menunjukkan bahwa ukuran klaster dan absorbansi meningkat dari konsentrasi 15-25 ppm Hidayanti dkk. (2018) menggunakan reduktor asam glutamat dan menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi pereduksi maka akan semakin besar nilai absorbansi yang diperoleh. Hal tersebut disebabkan oleh terjadinya protonasi dan penudungan dari gugus amina pada asam glutamat. Meningkatnya konsentrasi larutan emas dibandingkan konsentrasi reduktor dapat meningkatkan ukuran klaster karena adanya pertumbuhan partikel yang tidak terkontrol akibat dari

energi permukaan dari partikel emas besar, sehingga kecepatan pertumbuhan dan ukuran partikel tidak terkontrol dan mengalami agregasi dan penggumpalan (Tamam, 2014).

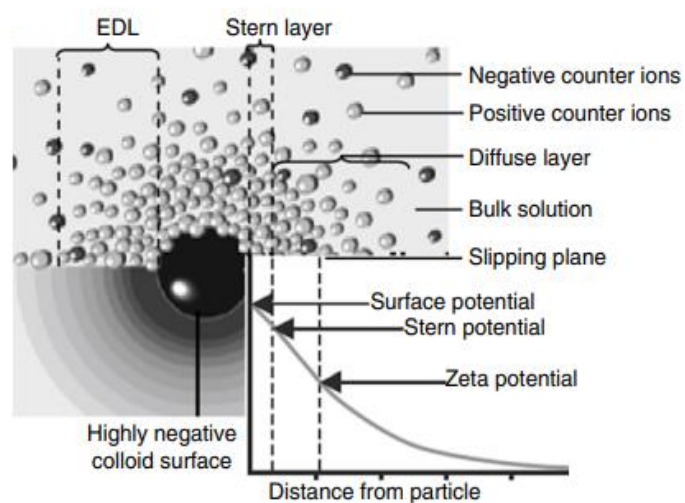
4. Waktu Reaksi

Waktu reaksi berpengaruh terhadap kestabilan nanopartikel emas yang diamati pada penyerapan panjang gelombang dan nilai absorbansinya. Peningkatan nilai panjang gelombang maksimum terjadi seiring dengan bertambahnya waktu reaksi. Absorbansi merupakan parameter pertumbuhan kluster nanopartikel emas yang terbentuk. Rahma (2019) menunjukkan pertambahan nilai absorbansi dari 0-14 hari. Proses pembentukan nanopartikel terlihat dari adanya pergeseran batokromik (Lembang dkk., 2014). Nanopartikel cenderung beragregasi karena adanya gaya antar partikel yang kuat yang menyebabkan jarak antar partikel menjadi kecil dan membentuk kluster yang lebih besar (Agregasi).

D. Agregasi

Agregasi nanopartikel dalam koloidal akan mengalami dispersi sehingga terjadi pembentukan dan pertumbuhan kluster (Chen dkk., 2006) dalam berbagai ukuran bahkan membentuk kluster ukuran mikro (Saleh dkk., 2010). Uji kolorimetri berdasarkan agregasi pada nanopartikel logam melalui perubahan warna telah banyak dikembangkan karena

kesederhanaannya, sensitifitas tinggi dan biaya yang rendah. Nanopartikel emas yang terdispersi dengan baik dan terjadinya pergeseran merah dari plasmon band akan berwarna merah sedangkan nanopartikel emas yang teragregasi akan berubah warna menjadi warna biru atau ungu hingga terbentuk klaster Au (Zhou dkk., 2012; Tan dkk., 2010).



Gambar 5. Skema lapisan ganda dalam koloid yang berinteraksi dengan muatan negatif (Zhang, 2014).

Interaksi elektrostatik menyatakan kekuatan dalam tarik menarik elektrostatik atau tolakan antara dua partikel yang berinteraksi karena adanya pembentukan lapisan ganda listrik (*Elektrik Double Layer*) di permukaan (Zhang dkk., 2014). Hal tersebut dapat diilustrasikan pada Gambar 5. Nanopartikel biasanya distabilkan dengan pelapisan permukaan untuk meningkatkan elektrostatik, sterik atau elektrostatik gaya tolak menolak antar nanopartikel dengan demikian untuk mencegah terjadinya agregasi seperti adanya penambahan asam amino sebagai

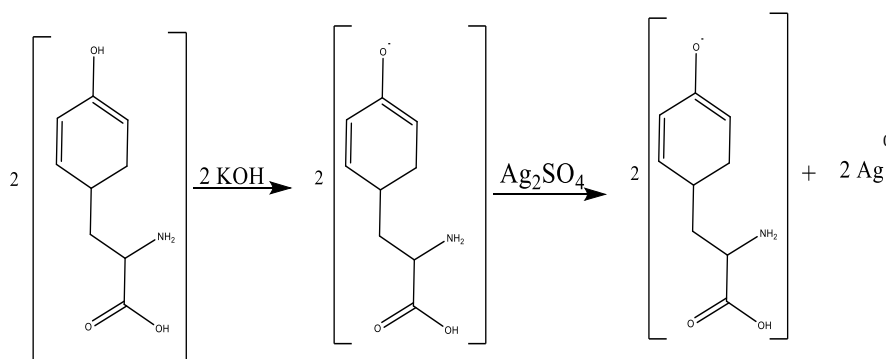
penstabil (Chen dkk., 2006; Huynh 2011; Allen dkk., 2010; Li dan Lenhart, 2012).

Ada dua jenis agregasi yang umumnya terdapat pada nanopartikel, yaitu homoagregasi dan heteroagregasi. Homoagregasi mengacu pada agregasi dua partikel sejenis sedangkan heteroagregasi mengacu pada partikel yang berbeda (Kim dkk., 1999). Agregasi nanopartikel dalam berbagai kondisi menerapkan prinsip teori kolid *Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek* (DLVO) yang didasarkan atas keseimbangan gaya (energi interaksi) yang terdiri dari gaya Van der Waals dan gaya elektrostatik tolak menolak dari tumpang tindih pada lapisan permukaan yang berinteraksi (Hermansson, 1999; Levard dkk., 2011).

Penelitian Yang dkk. (2018) melakukan pengujian bahwa bakteri *E. coli* dan *Salmonella typhi* dapat memasukkan asam amino ke dalam peptidoglikan sehingga diindikasikan D-asam amino berperan penting dalam agregasi nanopartikel emas. Hasil pengujian mengalami perubahan warna dari merah menjadi biru. Absorbansi 520 nm menurun dan absorbansi meningkat pada daerah 600 nm. Perbandingan antara absorbansi nilai nanopartikel emas-asam amino pada 600 nm dan 520 nm ($A_{600 \text{ nm}}/A_{520 \text{ nm}}$) untuk memperoleh nilai agregasi. Rendahnya nilai agregasi $A_{600 \text{ nm}}/A_{520 \text{ nm}}$ yang rendah menunjukkan nanopartikel emas menyebar dengan baik dalam larutan sedangkan nilai agregasi yang tinggi menandakan terjadinya agregasi pada nanopartikel emas (Gao dkk., 2017).

E. Tirosin

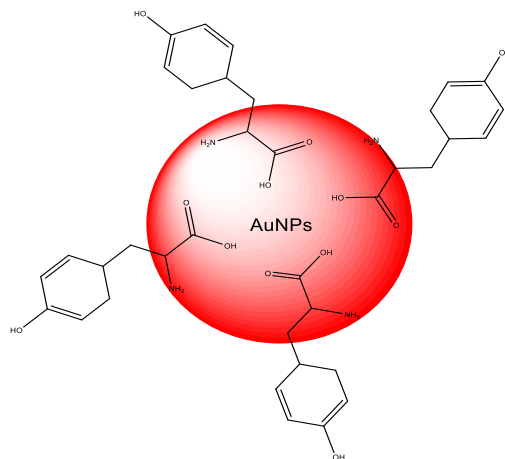
Tirosin merupakan salah satu jenis asam amino yang dijadikan sebagai agen pereduksi karena memiliki gugus atom pendonor elektron yaitu gugus karboksilat (-COOH), fenolik (C₆H₇O) dan amina (-NH₂). Tirosin dapat digunakan sebagai penudung dalam aplikasi nanopartikel perak. Penelitian Chucita dkk. (2018) menggunakan asam amino tirosin di mana gugus fenol dari tirosin terdeprotonasi membentuk gugus fungsi baru dan bermuatan negatif pada keadaan basa. Gugus fenol pada tirosin dapat melepas kation H⁺ membentuk basa konjugasi. Gugus fungsi tersebut bermuatan negatif kemudian berikatan dengan kation logam perak melalui interaksi elektrostatik maupun ikatan kovalen. Gambar 6 menunjukkan proses pembentukan nanopartikel perak yang menggunakan tirosin sebagai pereduksi.



Gambar 6. Skema mekanisme reduksi Ag⁺ menjadi Ag⁰ bersamaan dengan oksidasi gugus fenolik L-tirosin menjadi gugus quinon (Selvakannan dkk., 2004).

Dubey dkk. (2015) menunjukkan bahwa tirosin yang dijadikan sebagai penudung dalam nanopartikel emas memiliki daya hambat

amiloid insulin yang lebih besar dibandingkan dengan nanopartikel perak karena adanya pengaruh dari residu gugus aromatik. Interaksi elektrostatik terjadi antara nanopartikel emas dan tirosin yang dapat dilihat pada Gambar 7. Selain itu, pada pengukuran menggunakan XPS dan Zeta, di mana gugus amina dari molekul tirosin berikatan dengan permukaan nanopartikel emas dan diperoleh pita serapan SPR untuk nanopartikel emas-tirosin sebesar 523 nm yang sebelumnya telah direduksi oleh agen pereduksi yang memiliki gugus karbonil sebagai gugus pereduksi (Dubey dkk., 2015).

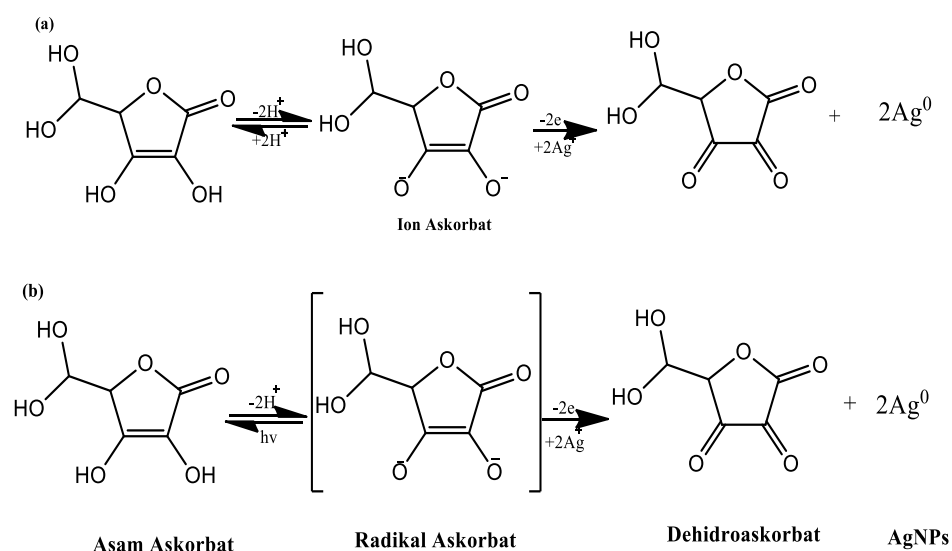


Gambar 7. Skema keterikatan gugus amina dari tirosin pada permukaan nanopartikel emas (Dubey dkk., 2015).

F. Asam Askorbat

Asam askorbat merupakan senyawa organik yang mempunyai rumus kimia $C_6H_8O_6$ berbentuk kristal putih, tidak berbau, memiliki massa molar 176,12 gram/mol¹, memiliki titik didih 190-192°C, kerapatan sebesar 1,65 g/cm³ (Atmaja, 2017). Asam askorbat akan membentuk bentangan

dengan ikatan rangkap jika teradsorpsi pada permukaan logam. Mekanisme inhibisi asam askorbat yaitu teradsorpsi pada permukaan logam membentuk suatu bentangan dengan ikatan rangkap. Permukaan logam yang bereaksi dengan inhibitor asam askorbat ini akan terlindungi oleh lapisan pelindung tipis pada permukaannya (Atmaja, 2017).

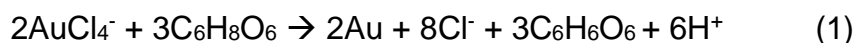


Gambar 8. Mekanisme reaksi pembentukan nanopartikel perak tanpa dan dengan sinar radiasi (Firdaus dkk., 2017)

Firdaus dkk. (2017), menggunakan asam askorbat dalam sintesis nanopartikel perak dengan adanya perbandingan pH yang akan mempengaruhi potensial reduksi dari asam askorbat tersebut. Penambahan pH menyebabkan penurunan kinerja reduksi asam askorbat dan menyebabkan reaksi berlangsung cepat, seperti yang terlihat pada Gambar 8. Asam askorbat berperan dalam pembentukan nanopartikel yang mereduksi Ag^+ menjadi Ag^0 dan ditandai dengan adanya perubahan warna bening menjadi kuning. Perubahan warna tersebut karena adanya

peristiwa eksitasi elektron dari keadaan dasar ke keadaan eksitasi pada permukaan nanopartikel atau biasa disebut efek *Surface Plasmon Resonance* (SPR) yang memiliki rentang spektrum penyerapan sinar tampak 400-500 nm (Firdaus dkk., 2017).

Penggunaan asam askorbat sebagai pereduksi dalam nanopartikel emas juga telah dilakukan oleh Tyagi dkk. (2011) data yang diperoleh menunjukkan dalam waktu 20 detik pada suhu kamar telah terjadi reaksi yang menyebabkan terjadi perubahan warna menjadi merah. Reaksi yang diperoleh:

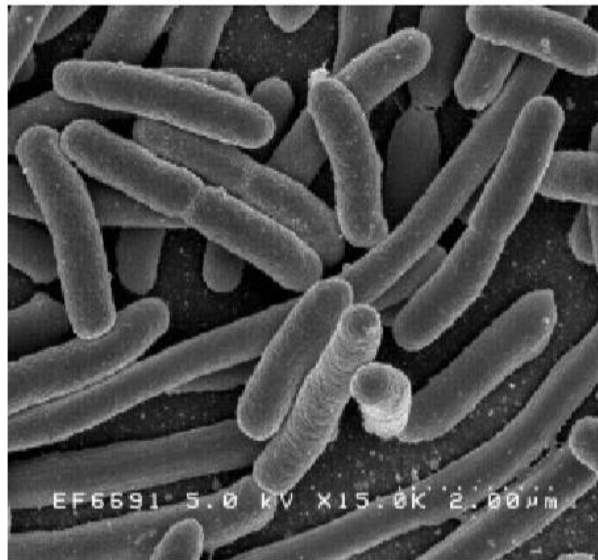


G. Bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *E. coli* ditemukan oleh Theodor Escherich pada tahun 1885. Bakteri ini berbentuk batang dengan panjang sekitar 2 mikrometer dan diameter 0.5 mikrometer yang dapat dilihat pada Gambar 9. Bakteri ini dapat hidup pada rentang suhu 20-40°C dengan suhu optimumnya pada 37°C dan tergolong bakteri gram negatif. Bakteri tersebut tidak mampu dibunuh dengan suhu dingin, akan tetapi hanya bisa dengan antibiotik, seperti ampisilin dan kloramfenikol (Girard, 2003).

Dinding sel bakteri gram negatif umumnya tersusun atas membran luar dan membran dalam. Membran dalam terkandung peptidoglikan dan membran luar terdiri atas lipoprotein dan liposakarida (Purwoko, 2007).

Peptidoglikan yang terkandung dalam bakteri gram negatif memiliki struktur yang lebih kompleks dibandingkan gram positif. Peptidoglikan berfungsi mencegah sel lisis, menyebabkan sel kaku dan memberi bentuk kepada sel (Purwoko, 2007).



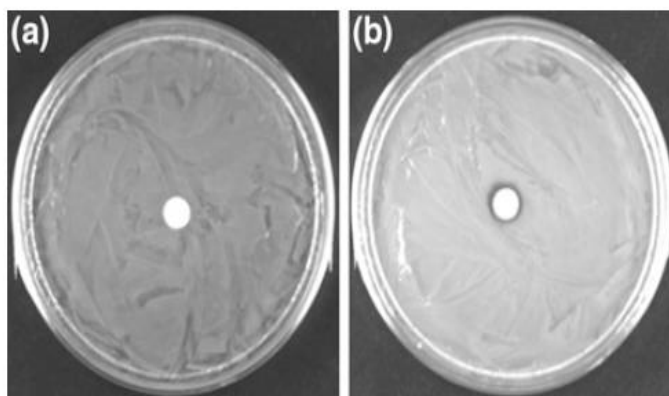
Gambar 9. Morfologi Bakteri *E. coli* berbentuk batang (Escherich, 1885).

Klasifikasi dari bakteri *E. coli* (Escherich, 1885), yaitu:

- Domain : Bacteria
- Kingdom : Eubacteria
- Phylum : Proteobacteria
- Class : Gammaproteobacteria
- Order : Enterobacteriales
- Family : Enterobacteriaceae
- Genus : *Escherichia*
- Species : *Escherichia coli*

Dinding sel bakteri gram negatif umumnya tersusun atas membran luar dan membran dalam. Membran dalam terkandung peptidoglikan dan membran luar terdiri atas lipoprotein dan liposakarida (Purwoko, 2007). Peptidoglikan yang terkandung dalam bakteri gram negatif memiliki struktur yang lebih kompleks dibandingkan gram positif. Peptidoglikan berfungsi mencegah sel lisis, menyebabkan sel kaku dan memberi bentuk kepada sel (Purwoko, 2007).

Menurut Suresh dkk. (2015), sensitivitas bakteri *E. coli* terhadap nanopartikel yang berbeda dapat diuji menggunakan uji difusi cakram, pada konsentrasi yang sama (25 $\mu\text{g/mL}$) dari berbagai jenis agen toksik (konstituen nano, partikel nano). Gambar 10 menunjukkan diameter zona hambatan nanopartikel emas terhadap *E. coli*.



Gambar 10. Identifikasi *Escherichia coli* pada kultur yang (a) tidak diberikan nanopartikel emas, kontrol dan sel yang dirawat (b) diberikan nanopartikel emas (Suresh, 2015)

Gambar 10(a) menunjukkan bahwa sel-sel *E. coli* yang tidak diberikan nanopartikel emas dapat tumbuh tanpa hambatan, sedangkan untuk kultur *E. coli* yang ditambahkan dengan nanopartikel emas, zona

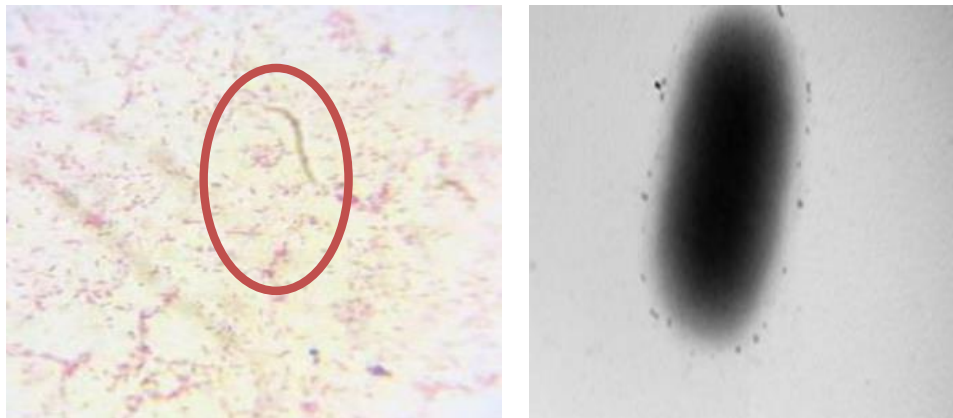
penghambatan yang jelas dapat dilihat. Gambar 10(b) jelas membuktikan bahwa adanya penambahan formulasi memiliki efek bakterisida atau membunuh. Lutfiah dkk. (2020) menggunakan nanopartikel emas dalam pengaplikasiannya sebagai sensor kolorimetri terhadap bakteri *E. coli*, menyebabkan adanya perubahan warna dari merah menjadi biru sesuai dengan konsentrasi bakteri *E. coli*. Perubahan warna tersebut disebabkan oleh adanya sitrat-nanopartikel emas yang teragregasi dan berikatan silang dengan lipopolisakarida (LPS) yang terdapat pada bagian terluar dari bakteri *E. coli*.

H. Bakteri *Salmonella typhi*

Salmonella typhi merupakan bakteri yang berbentuk batang, gram negatif, fakultatif aerob, bergerak dengan flagel peritrika dan bersifat patogen (Clarke, 2004) dapat dilihat pada Gambar 11. Bakteri *Salmonella typhi* termasuk dalam kategori bakteri gram negatif yang mengandung lipid dan lemak dalam persentase yang lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri gram positif serta dinding sel bakteri gram negatif lebih tipis dibandingkan oleh bakteri gram positif (Bhutta, 2006). Menurut Saini dan Rao (2009) dinding sel bakteri gram negatif mengandung tiga komponen yang terletak di luar lapisan peptidoglikan yaitu lipoprotein, membran luar dan lipopolisakarida. Lipoprotein mampu menstabilkan membran luar yang mengandung fosfolipid bilayer di mana fosfolipid luar diganti oleh lipopolisakarida.

Klasifikasi dari bakteri *Salmonella typhi* (Salmon dan Smith, 1886),
yaitu sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Phylum : Proteobacteria
Classis : Gamma proteobacteria
Ordo : Enterobakteriales
Familia : Enterobacteriaceae
Genus : *Salmonella*
Species : *Salmonella typhi*



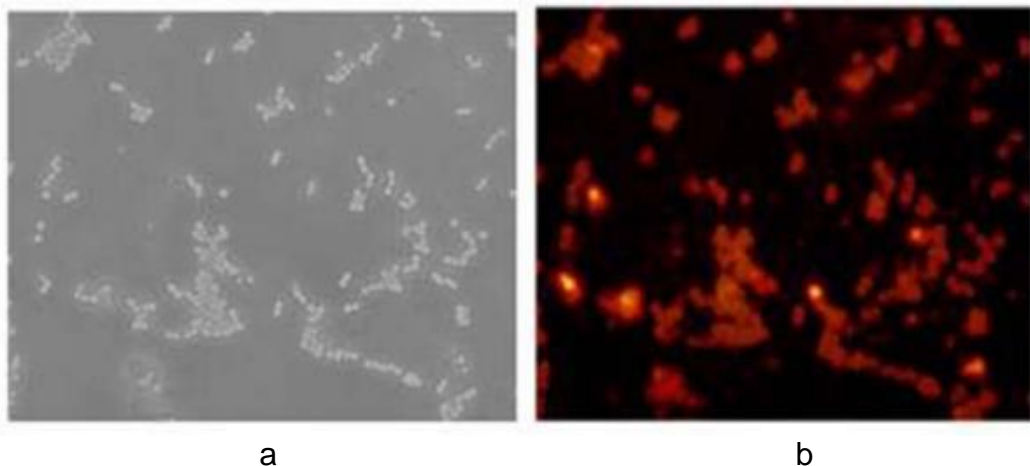
Gambar 11. (a) Hasil mikroskop bakteri *Salmonella typhi* berbentuk batang dimedia IMViC (Ulya dan Widyawati, 2020), (b) bentuk bakteri *Salmonella typhi* dilihat menggunakan (Wang dkk., 2015).

Deteksi bakteri *Salmonella typhi* telah banyak dilakukan, salah satunya adalah mendeteksi dengan metode elektrokimia menggunakan nanopartikel emas dengan anti *Salmonella* magnetik yang dimodifikasi dengan antibody (MBs-pSAb) yang membentuk klaster yang lebih besar

ketika setelah diinkubasi dengan bakteri *Salmonella typhi* konsentrasi 10^{-5} CFU/mL (Afonso dkk., 2013).

I. Bakteri *Staphylococcus aureus*

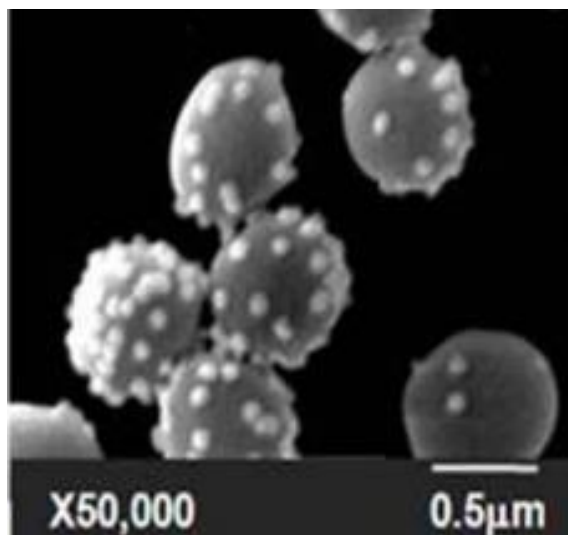
Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif berbentuk bulat dengan diameter kira-kira $1\mu\text{m}$, tidak motil dan tidak berkapsul (Ongston, 1984) dapat dilihat pada Gambar 12. *Staphylococcus aureus* tahan garam dan tumbuh baik pada medium yang mengandung 7,5% NaCl, serta dapat memfermentasikan manitol, koloni bakteri ini yang bersifat patogen berwarna putih atau kuning (Lowy, 1998). *S. aureus* dapat menyebabkan banyak penyakit mulai dari infeksi kulit ringan hingga penyakit yang berbahaya seperti meningitis.



Gambar 12. (a) Hasil deteksi bakteri *S. aureus* menggunakan mikroskop fluoresens bidang terang (b) Hasil deteksi bakteri *S. aureus* menggunakan mikroskop fluoresens bidang fluoresens (Chang dkk., 2013).

Klasifikasi dari bakteri *Staphylococcus aureus* (Ongston,1884), yaitu sebagai berikut:

Kingdom : Procaryotae
Phylum : Proteobakteria
Classis : Schyzomycetales
Ordo : Eubacteriales
Familia : Micrococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Species : *Staphylococcus aureus*



Gambar 13. Hasil deteksi interaksi Aptamer-Nanopartikel emas dengan bakteri *S. aureus* menggunakan SEM (Chung Chang dkk., 2013).

Penelitian Chang dkk. (2013) dalam mendeteksi adanya bakteri *S. aureus* menggunakan nanopartikel emas yang dilapisi dengan aptamer

agar menambah sensitifitas dan selektifitasnya. Hal tersebut dapat dilihat pada Gambar 13 yang memperlihatkan banyaknya bakteri menempel pada aptamer-nanopartikel emas.

J. Karakterisasi Nanopartikel Emas

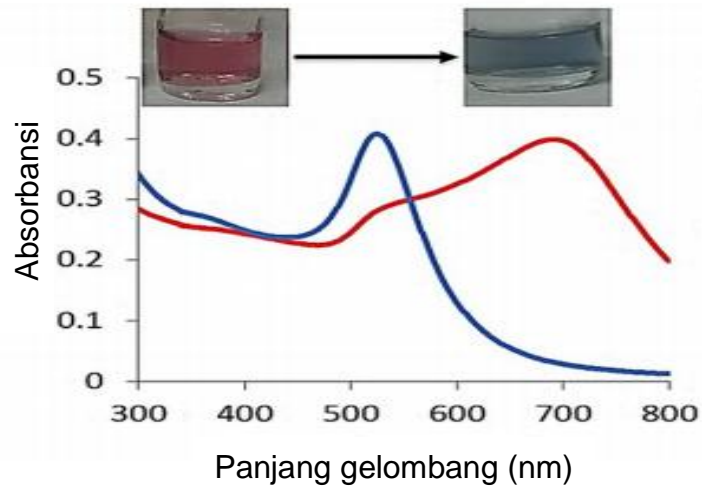
Identifikasi suatu senyawaan atau unsur dapat dilakukan dengan menggunakan instrumen. Dengan bantuan instrumen, waktu analisis lebih cepat dan penggunaan sampel lebih efisien serta tingkat akurasi lebih tinggi jika dibandingkan metode konvensional. Beberapa metode yang digunakan untuk karakterisasi nanopartikel, yaitu:

1. Spektroskopi UV-Vis

Spektroskopi berhubungan dengan penyerapan sinar tampak maupun sinar ultraviolet oleh molekul. Molekul tersebut akan menyerap sinar radiasi baik ultraviolet maupun sinar tampak sehingga mengakibatkan adanya transisi tingkat energi elektroniknya. Satuan panjang gelombang pada spektrofotometri UV-Vis adalah nanometer (nm), Angstrom (\AA) atau millimicron (μm).

Sovawi dkk. (2016) menganalisis nanopartikel emas dengan variasi penambahan bioreduktor ekstrak buah jambu biji merah dengan berbagai konsentrasi. Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan absorbansi dengan meningkatnya konsentrasi bioreduktor sehingga Au^{3+} yang tereduksi menjadi Au^0 semakin banyak (Sovawi dkk., 2016). Hal tersebut menyebabkan tumbukan antar partikel sering terjadi dan

mengakibatkan terjadinya aglomerasi. Gambar 14 menunjukkan adanya perubahan warna nanopartikel emas dari warna merah menjadi warna biru setelah ditambahkan sitrat sebagai penudung (Unal dkk., 2020).

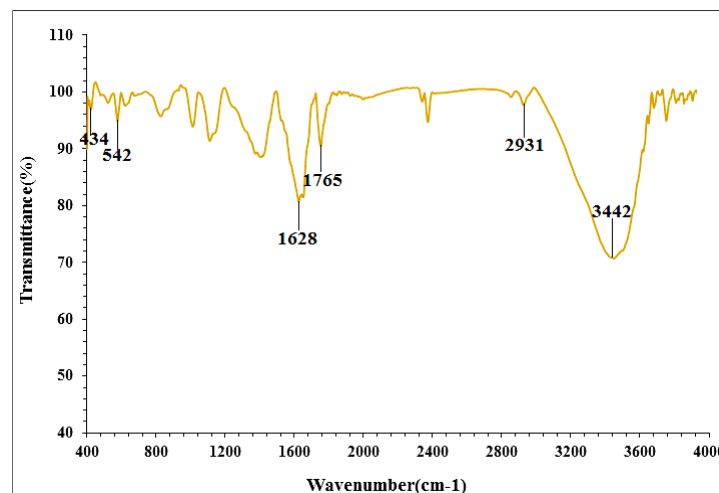


Gambar 14. Spektrum UV-Vis nanopartikel emas sebelum (warna merah) dan setelah penambahan sitrat (warna biru) (Unal dkk., 2020).

6. Spektroskopi *Fourier Transform InfraRed* (FTIR)

Spektrofotometer FTIR merupakan suatu instrumen yang digunakan untuk menentukan gugus fungsi suatu senyawa. Spektrum FTIR memiliki bilangan panjang gelombang $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ (Pirathiba dan Dayananda, 2021) yang lebih panjang dibandingkan dengan UV-Vis sehingga energinya lebih rendah. Atar dan Yola (2021) mengemukakan bahwa pergeseran serapan panjang gelombang pita IR terjadi dari 802 cm^{-1} menjadi 719 cm^{-1} yang menunjukkan adanya interaksi antara gugus S dari Sulfur-Grapen dengan Au dari nanopartikel emas dalam pembentukan nanokomposit antara nanopartikel emas dan Sulfur-Grapen.

Chang dkk. (2021) yang mensintesis nanopartikel emas dengan menggunakan ekstrak air daun sativa melaporkan adanya puncak pada 3442 dan 2917 cm^{-1} yang berhubungan dengan vibrasi regang O-H dan C-H alifatik. Pita serapan pada kisaran 1628 sampai 1765 cm^{-1} sesuai dengan vibrasi tekuk C=C dan C=O. Pita serapan pada 1100 dan 1029 cm^{-1} dikaitkan dengan vibrasi regang -C-O dan -C-O-C. Spektrum nanopartikel emas hasil reduksi dari ekstrak daun sativa dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Spektrum FTIR dari nanopartikel emas hasil reduksi dari ekstrak daun sativa (Chang, dkk., 2021).

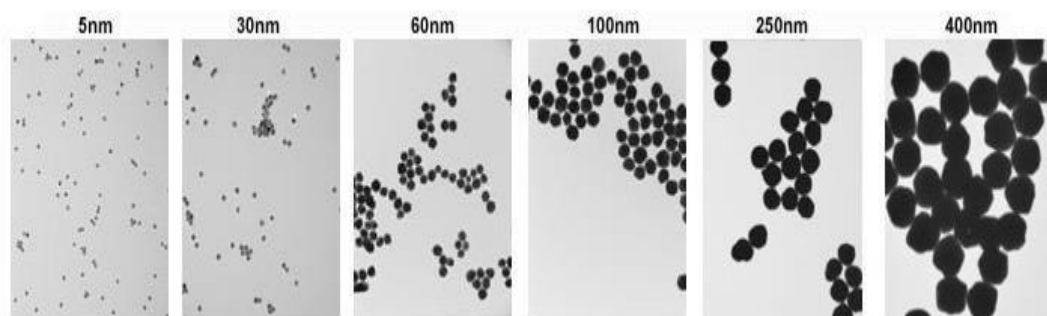
7. Particle Size Analyzer (PSA)

Particle Size Analyzer (PSA) merupakan instrumen yang dapat mengkarakterisasi ukuran nanopartikel dengan besaran 1 nm - 1 μm . Instrumen PSA beroperasi dengan memanfaatkan prinsip *Dynamic Light Scattering* (DLS) di mana partikel dalam larutan mengalami gerak *Brown*.

Pergerakan partikel yang berukuran kecil akan cepat dan pergerakan partikel yang berukuran besar akan lambat (Horiba, 2017). Ukuran rata-rata partikel dapat ditentukan dengan menganalisis suspensi nanopartikel dengan menggunakan Malvern Zeta si (Dhas dkk., 2020).

8. TEM (*Transmission Electron Microscopy*)

Instrumen TEM merupakan instrumen mikroskop elektron, di mana elektron mampu menembus obyek pengamatan (Karlik, 2001). Karakterisasi ukuran partikel dan pendistribusiannya dapat diketahui dengan TEM karena TEM memiliki resolusi yang tinggi, sehingga dapat digunakan dalam mengamati partikel dalam ukuran nanometer (Egerton dkk., 2010). Dhas dkk. (2020) mengemukakan bahwa dalam penggunaan TEM, Grid HR TEM dilapisi dengan nanopartikel emas selama 2 menit dan jika terdapat kelebihan cairan maka akan diserap menggunakan kertas *blotting* dan dibiarkan mengering. Ukuran dan bentuk nanopartikel emas dapat ditentukan dari HR TEM mikrograf seperti yang ditunjukkan pada Gambar 16.



Gambar 16. Ukuran AuNP mulai dari 5 nm (kiri) hingga 400 nm (kanan) hasil proyeksi TEM, dengan koefisien variansi <8% (Egerton, 2010).

K. Uji Selektivitas

Selektivitas dalam pengujian sensor dalam mendeteksi bakteri target, dapat dilakukan dengan beberapa metode yaitu, dengan adanya penambahan aptamer atau antigen. Pengujian yang paling mudah salah satunya yaitu dengan membandingkan nilai agregasi sensor dalam mendeteksi bakteri lain dan adanya uji pada larutan garam (Li dkk., 2009).

Nilai agregasi dibandingkan untuk mengetahui target yang diinginkan khususnya dalam mendeteksi bakteri. Jika nilai agregasi di bawah 0,5 maka termasuk nontarget sedangkan jika nilai agregasi di atas 0,5 maka termasuk target nilai agregasi untuk bakteri. Pengujian terhadap larutan garam seperti NaCl, FeCl₃ (Yang dkk., 2018), MgCl₂, CaCl₂ (Li dkk., 209) dan ZnCl₂ (Raj dkk., 2015) dilakukan untuk mengetahui pengaruh agregasi sensor dalam mendeteksi bakteri target yang mana nilai agregasi diperoleh <0,5 dengan konsentrasi 0,5 - 1 mM, sedangkan pengujian terhadap bakteri lain dimaksudkan agar diketahui perbedaan dalam mendeteksi yang mana nilai agregasi menjadi parameter dalam selektivitasnya (Raj dkk., 2015; Yang dkk., 2018).

L. Kerangka Pikir

Pertumbuhan penduduk akan diikuti dengan peningkatan aktivitas masyarakat sehingga memberikan dampak pencemaran pada lingkungan terutama dalam lingkungan perairan. Limbah pada lingkungan perairan

dapat berupa limbah kimia dan biologi. Salah satu limbah biologi adalah bakteri *E. coli*, sehingga diperlukan metode dalam mendeteksinya. Metode dalam mendeteksi bakteri *E. coli* telah banyak dikembangkan diantaranya dengan metode media kultur, uji IMViC dan metode *PCR*. Akan tetapi metode tersebut membutuhkan waktu yang relatif lama. sehingga metode yang lebih efisien diperlukan. Seiring perkembangan sains dan teknologi, metode modifikasi dengan menggunakan nanomaterial telah dikembangkan.

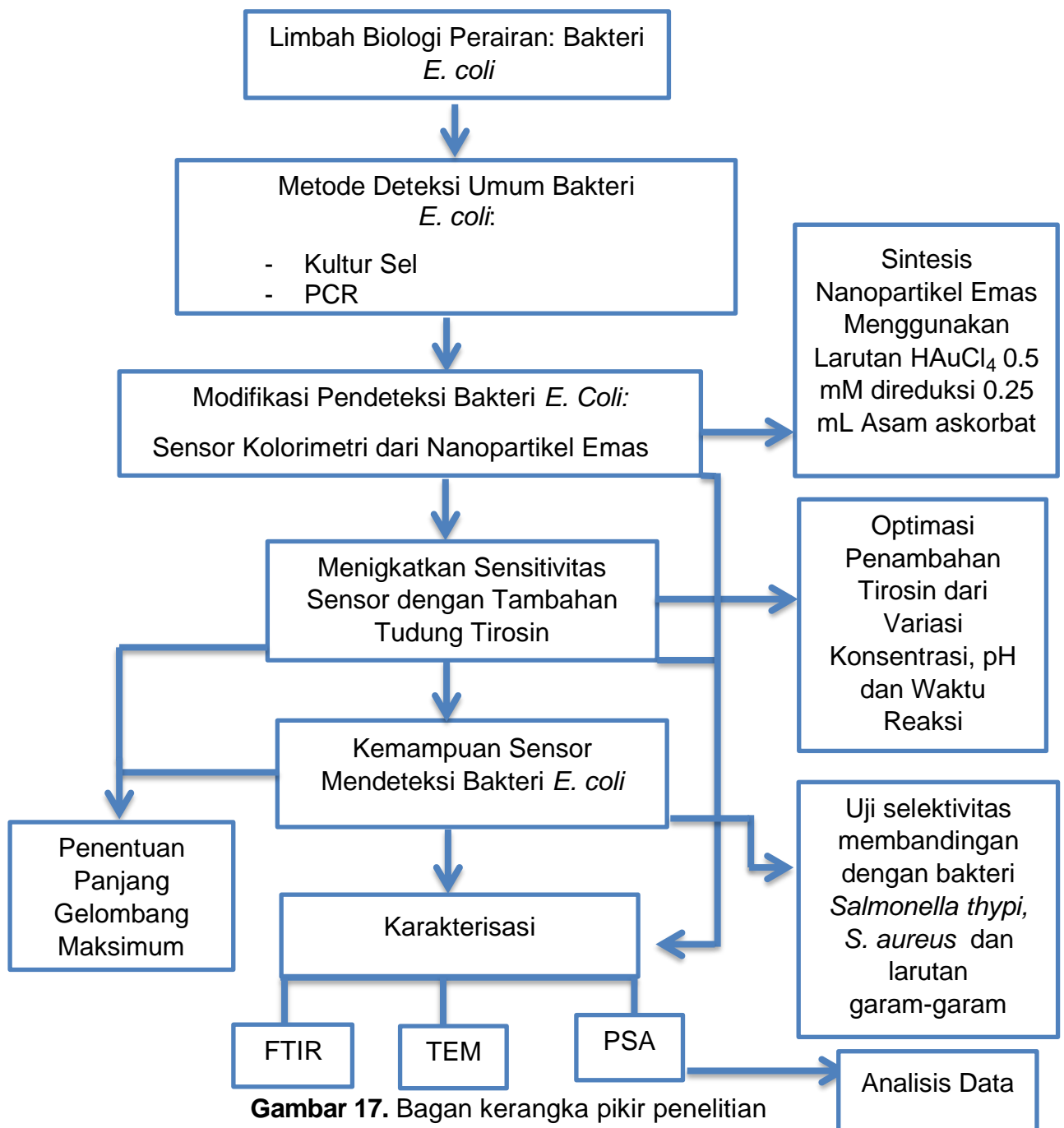
Salah satu nanomaterial adalah nanopartikel yang dapat dimodifikasi menjadi sensor. Metode nanopartikel sensor memiliki kelebihan dalam mendeteksi dengan waktu yang relatif singkat. Saat ini emas dapat dijadikan sebagai sensor nanopartikel karena logam emas mampu menghantarkan dan menerima gelombang elektromagnetik dengan ciri khas berupa penyerapan *Surface Plasmon Resonance* (SPR) yang kuat sehingga dapat digunakan sebagai sensor kolorimetri. Nanopartikel emas dapat disintesis dari larutan emas dengan bantuan reduktor alami. Namun, reduktor dari bahan alam memiliki kekurangan yaitu kestabilannya tidak dapat bertahan lama. Oleh karena itu, asam askorbat sintetik digunakan sebagai reduktor. Keberhasilan pembentukan nanopartikel emas dapat ditandai dengan adanya perubahan warna dari warna kuning (emas) menjadi warna merah *ruby*.

Nanopartikel emas dapat berubah warna menjadi biru jika teragregasi atau tidak stabil. Zat penudung diperlukan untuk menjaga

kestabilan nanopartikel emas. Zat penudung dapat berasal dari asam amino seperti tirosin. Tirosin mampu menjaga kestabilan serta meningkatkan sensitifitas dalam mendeteksi bakteri *E. coli*. Tirosin yang memiliki gugus -OH dari fenol yang bermuatan negatif akan berinteraksi secara elektrostatik dan ikatan kovalen dengan permukaan nanopartikel emas yang memiliki muatan 0. Sedangkan gugus amina yang diharapkan mampu berinteraksi dengan lapisan membran terluar bakteri *E. coli* yaitu pada bagian lipopolisakarida yang bermuatan negatif serta terjadinya interaksi hidropobik. Dalam penelitian ini, nanopartikel emas-tirosin akan digunakan sebagai sensor kolorimetri berbasis agregat dalam mendeteksi *E. coli* yang akan dibandingkan dengan penggunaan sensor kolorimetri nanopartikel emas. Penentuan limit deteksi untuk mengetahui kemampuan dalam mendeteksi yang diperoleh dari nilai agregasi dan anti log dari konsentrasi bakteri yang kemudian diperoleh nilai regresi dan persamaan $y = ax + b$.

Selektivitas sensor dilakukan dengan membandingkan nilai agregasi sensor dalam mendeteksi bakteri *E. coli* dengan nilai agregasi sensor terhadap bakteri *Salmonella thypi* dan *S. aureus*. uji selektivitas juga diperoleh dengan membandingkannya dalam mendeteksi kation pada larutan garam seperti natrium klorida (NaCl), kalsium klorida (CaCl_2), magnesium klorida (MgCl_2), seng klorida (ZnCl_2), besi(III) klorida (FeCl_3) agar diketahui pengaruh kondisi bawaan dari sediaan cair bakteri serta

gangguan kation-kation. Nanopartikel emas, Nanopartikel emas-Tirosin, Nanopartikel emas-Tirosin-bakteri *E. coli* dapat dikarakterisasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer FTIR, TEM dan PSA. Bagan kerangka pikir diberikan pada Gambar 17.



I. Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini sebagai berikut:

1. reaksi asam tetrakloroaurat (HAuCl_4) dengan reduktor asam askorbat dalam mensintesis nanopartikel emas memberikan hasil yang stabil dan ukuran partikel berskala nano.
2. pada kondisi yang optimum nanopartikel emas dapat stabil dan sensitifitasnya sebagai sensor bertambah dengan penambahan agen penudung tirosin
3. senyawa Nanopartikel emas-Tirosin aktif sebagai sensor terhadap bakteri *E. coli*.
4. memperoleh hasil perbandingan antara sensor yang terdiri dari Nanopartikel emas-Tirosin dan hanya nanopartikel emas saja dalam mendeteksi bakteri *E. coli*.
5. memperoleh hasil uji selektivitas antara sensor dalam mendeteksi bakteri *E. coli* yang dibandingkan dengan sensor dalam mendeteksi bakteri *Salmonella typhi* dan *S. aureus* serta pengujian selektivitas terhadap natrium klorida (NaCl), kalsium klorida (CaCl_2), magnesium klorida (MgCl_2), seng klorida (ZnCl_2), besi(III) klorida (FeCl_3).