

**SINTESIS NANOPARTIKEL EMAS (Au) MENGGUNAKAN  
BIOREDUKTOR EKSTRAK KULIT BUAH KAKAO (*Theobroma cacao* L.)  
DAN UJI AKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIBAKTERI**

**FABRIANI SABIR**

**H031181020**



**DEPARTEMEN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**SINTESIS NANOPARTIKEL EMAS (Au) MENGGUNAKAN  
BIOREDUKTOR EKSTRAK KULIT BUAH KAKAO (*Theobroma cacao* L.)  
DAN UJI AKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIBAKTERI**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar sarjana sains*

**Oleh**

**FABRIANI SABIR**

**H031181020**



**MAKASSAR  
2022**

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**SINTESIS NANOPARTIKEL EMAS (Au) MENGGUNAKAN  
BIOREDUKTOR EKSTRAK KULIT BUAH KAKAO (*Theobroma cacao* L.)  
DAN UJI AKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIBAKTERI**

**Disusun dan diajukan oleh**

**FABRIANI SABIR**

**H031 18 1020**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Sidang Sarjana Program Studi

Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

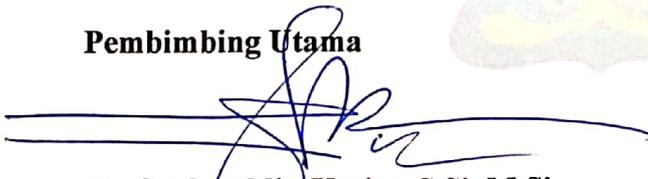
Universitas Hasanuddin

Pada 23 Agustus 2022

dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

**Pembimbing Utama**



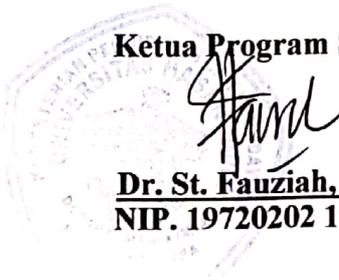
**Dr. Syahrudin Kasim, S.Si., M.Si**  
NIP. 19690705 199703 1 001

**Pembimbing Pertama**



**Abdur Rahman Arif, S.Si., M.Si**  
NIP. 19861008 201504 1 002

**Ketua Program Studi**



**Dr. St. Fauziah, M.Si**  
NIP. 19720202 199903 2 002

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Fabriani Sabir  
NIM : H031181020  
Program Studi : Kimia  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul “Sintesis Nanopartikel Emas (Au) menggunakan Bioreduktor Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) dan Uji aktivitasnya sebagai Antibakteri” adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 14 Agustus 2022

Yang Menyatakan,



Fabriani Sabir

## LEMBAR PERSEMBAHAN

*“to infinity and beyond”*  
(Toy Story, 1995)

**“..apapun yang telah menjadi keputusan terhadap tanggung jawab atas diri  
ini tidak akan boleh mundur kecuali atas kehendak-Nya”**  
(Anonim, ∞)

## PRAKATA

*Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh*

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas nikmat dan berkah-Nya sehingga skripsi ini terselesaikan. Shalawat serta salam tak lupa jua penulis haturkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah memberikan suri tauladan dalam menjalani kehidupan dunia dan akhirat. Syukur alhamdulillah atas selesainya penulisan skripsi ini dengan judul “Sintesis Nanopartikel Emas (Au) menggunakan Bioreduktor Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) dan Uji Aktivitasnya sebagai Antibakteri”. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna, untuk itu penulis berharap dapat diberikan saran dan kritikan yang membangun agar dapat lebih baik lagi ke depannya.

Penulis ucapkan terima kasih yang mendalam kepada kedua orangtua, Ayahanda Muhammad Sabir (Alm.) dan Ibunda St. Habiba atas ketulusan dan kesabaran dalam membantu dan mendidik banyak hal serta doa tulus yang tak terputus hingga saat ini. Semoga Allah SWT melindunginya dalam peluk kasih sayang-Nya dan diberkahi seluruh amalan dan ibadahnya.

Ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada Dr. Syahrudin Kasim, S.Si., M.Si dan Abdur Rahman Arif, S.Si., M.Si selaku dosen pembimbing atas ilmu, nasihat dan pengajaran yang diberikan kepada penulis. Tak lupa juga penulis ucapkan permohonan maaf yang mendalam jika kiranya selama penelitian banyak hal yang kurang berkenan. Tentunya dalam proses ini sudah dibantu oleh banyak pihak untuk itu izinkan penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dosen penguji skripsi, Dr. Nursiah La Nafie, M.Sc dan Drs. Fredryk Welliam Mandey, M.Sc atas bimbingan, saran dan kritik yang sangat berarti sebagai acuan dalam perbaikan penulisan skripsi ini.

2. Ketua Departemen kimia, Dr. Abd. Karim, M.Si dan Ibu Dr. St. Fauziah, M.Si serta Dr. Nur Umriani Permatasari, M.Si selaku sekretaris Departemen Kimia yang telah memfasilitasi dan memberikan kemudahan bagi penulis dalam menyelesaikan studi ini.
3. Bapak dan Ibu dosen serta seluruh Analis Laboratorium selingkup Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam terkhusus Departemen Kimia yang telah membimbing dan memberikan ilmunya kepada penulis.
4. Ibu dan Atta penulis yang tercinta, Ibunda Rosita, S.T dan Ayahanda Amran Arsyad, S.T atas segala kemurahan hatinya dalam membantu, mendidik dan mewujudkan mimpi penulis hingga di tahap ini. Semoga Allah SWT senantiasa melindungi setiap langkah kalian dalam pelukan dan kasih sayangnya.
5. Saudara dan keluarga yang telah mendoakan dan memberikan bantuan baik berupa moril dan materi selama menjalani studi ini.
6. Teman-teman kimia 2018 yang sangat bermurah hati membantu dan memberikan semangat kepada penulis selama perkuliahan.
7. Terkhusus kepada, Anti, Fatriani, Asmirah, Defa, Zulfha, Arwani, Riska, Hira, Fadlia yang sudah sangat amat banyak membantu baik dalam urusan perkuliahan maupun di luar urusan perkuliahan, dengan segala kerendahan hati penulis ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya.
8. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis uraikan satu demi satu.

Makassar, Juli 2022

Penulis

## ABSTRAK

Penelitian Sintesis Nanopartikel Emas (Au) menggunakan Bioreduktor Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) dan Uji Aktivitasnya sebagai antibakteri telah dilakukan. Metode *Green Synthesis* ini menggunakan pelarut metanol untuk mengekstrak senyawa organik pada kulit buah kakao yang berfungsi sebagai bioreduktor. Hasil sintesis dilanjutkan dengan uji aktivitasnya sebagai antibakteri. Terbentuknya nanopartikel emas dapat dikonfirmasi setelah 30 menit pengadukan. Karakterisasi nanopartikel emas dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis, *Fourier Transform Infrared* (FTIR), *X-Ray Diffraction* (XRD), dan *Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-Ray* (SEM-EDX). Berdasarkan hasil analisis spektrofotometer UV-Vis menunjukkan panjang gelombang maksimum pada 553 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,164. Hasil FTIR menunjukkan keberadaan gugus hidroksil yang berperan sebagai pereduksi ion logam sehingga tidak bermuatan sedangkan hasil analisa dengan XRD mengkonfirmasi bahwa kristal nanopartikel emas bersifat *Face Centered Cubic* (FCC) serta berdasarkan pendekatan *Scherrer* distribusi ukuran partikel yaitu memiliki diameter rata-rata 8,928 nm. Hasil SEM-EDX menunjukkan bahwa nanopartikel emas memiliki bentuk bulat dan berada pada kulit elektron M. Nanopartikel emas memiliki zona hambat 8,9 mm pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan 7,6 mm pada bakteri *Bacillus subtilis*.

Kata Kunci: antibakteri, *Bacillus subtilis*, bioreduktor, nanopartikel emas, *Pseudomonas aeruginosa*.

## ABSTRACT

Research on the synthesis of Gold (Au) Nanoparticles using Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Peel Extract Bioreductor and Activity Test as antibacterial has been carried out. This Green Synthesis method uses methanol as a solvent to extract organic compounds in the skin of cocoa pods that function as bioreductants. The results of the synthesis were continued by testing its activity as an antibacterial. The formation of gold nanoparticles can be confirmed after 30 minutes of stirring. The characterization of gold nanoparticles was carried out using a UV-Vis spectrophotometer, *Fourier Transform Infrared* (FTIR), *X-Ray Diffraction* (XRD), and *Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-Ray* (SEM-EDX). Based on the analysis of UV-Vis spectrophotometer, the maximum wavelength was at 553 nm with an absorbance value of 0.164. The FTIR results indicate the presence of a hydroxyl group that acts as a metal ion reducing agent so that it is not charged, while the results of the XRD analysis confirm that the gold nanoparticle crystals are Face Centered Cubic (FCC) and based on the Scherrer approach the particle size distribution has an average diameter of 8.928 nm. The SEM-EDX results showed that the gold nanoparticles had a spherical shape and were located in the M electron shell. The gold nanoparticles had an inhibitory zone of 8.9 mm in *Pseudomonas aeruginosa* and 7.6 mm in *Bacillus subtilis* bacteria.

Keywords: antibacterial, *Bacillus subtilis*, bioreductor, gold nanoparticles, *Pseudomonas aeruginosa*

## DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA.....	vi
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN .....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian .....	6
1.3.1 Maksud Penelitian.....	6
1.3.2 Tujuan Penelitian .....	6
1.4 Manfaat Penelitian .....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	7
2.1 Nanopartikel .....	7
2.2 Logam Emas (Au).....	10
2.3 Sintesis Nanopartikel Emas .....	11
2.4 Kakao ( <i>Theobroma cacao</i> L.).....	15
2.4.1 Morfologi Kakao ( <i>Theobroma cacao</i> L.).....	15

2.4.2	Taksonomi Kakao ( <i>Theobroma cacao</i> L.).....	17
2.5	Antibakteri .....	20
2.6	Karakterisasi Nanopartikel.....	24
2.6.1	<i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR) .....	25
2.6.2	<i>UV-Visible spectrofotometer</i> .....	25
2.6.3	<i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM).....	26
2.6.4	<i>X-Ray Diffraction</i> (XRD) .....	27
BAB III METODE PENELITIAN .....		28
3.1	Bahan Penelitian .....	28
3.2	Alat Penelitian .....	28
3.3	Waktu dan Tempat Penelitian .....	28
3.4	Prosedur Penelitian.....	29
3.4.1	Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Kakao.....	29
3.4.2	Uji Fitokimia.....	29
3.4.3	Pembuatan Larutan HAuCl <sub>4</sub> 5 mM.....	31
3.4.4	Pembuatan larutan HAuCl <sub>4</sub> 0,5 mM, 1 mM dan 1,5 mM .....	31
3.4.5	Sintesis Nanopartikel Emas .....	31
3.5	Pengujian Aktivitas Antibakteri .....	31
3.5.1	Pembuatan Media Mueller Hinton Agar (MHA).....	31
3.5.2	Pembuatan Media Nutrien Broth .....	32
3.5.3	Penyediaan Suspensi Bakteri .....	32
3.5.4	Penentuan Aktivitas Antibakteri .....	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....		34
4.1	Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Kakao .....	34

4.2 Sintesis Nanopartikel Emas .....	36
4.3 Karakterisasi Nanopartikel Emas .....	37
4.3.1 Spektrofotometer UV-Vis .....	38
4.3.2 <i>X-Ray Diffraction (XRD)</i> .....	38
4.3.3 <i>Fourier Transform Infrared (FTIR)</i> .....	40
4.3.4 <i>Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive Spectroscopy (SEM-EDX)</i> .....	42
4.4 Uji Antibakteri .....	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	46
5.1 Kesimpulan .....	46
5.2 Saran .....	46
DAFTAR PUSTAKA .....	47
LAMPIRAN.....	53

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Aplikasi Nanopartikel dalam berbagai Bidang .....	8
2. Sifat Fisik dan Kimia Emas .....	11
3. Penelitian mengenai Sintesis Nanopartikel Emas .....	13
4. Hasil Pengujian Kualitatif Skrining Fitokimia .....	18
5. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao .....	34
6. Hasil Pengukuran Nanopartikel menggunakan Spektrofotometer UV-Vis .....	38
7. Analisis Ukuran Kristal Nanopartikel Emas .....	40
8. Data Serapan FTIR Ekstrak Kulit Buah Kakao dan Nanopartikel Emas .....	41
9. Jumlah Atom Dominan pada Nanopartikel Emas dengan EDX .....	43
10. Hasil Pengukuran Zona Inhibisi pada Uji Antibakteri .....	45

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan Kerja Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Kakao .....	53
2. Bagan Kerja Uji Fitokimia.....	54
3. Bagan Kerja Pembuatan Larutan H <sub>Au</sub> Cl <sub>4</sub> .....	55
4. Bagan Kerja Sintesis Nanopartikel Emas .....	56
5. Bagan Kerja Pembuatan Media Mueller Hinton Agar (MHA).....	57
6. Bagan Kerja Pembuatan Media Nutrien Broth .....	58
7. Bagan Kerja Penyediaan Suspensi Bakteri .....	59
8. Bagan Kerja Pengujian Antibakteri .....	60
9. Dokumentasi Penelitian .....	61
10. Data Spektrofotometer UV-Vis .....	64
11. Data FTIR Ekstrak Kulit Buah Kakao ( <i>Theobroma cacao</i> L.).....	66
12. Data FTIR Nanpartikel Emas.....	67
13. Perhitungan Pembuatan Larutan H <sub>Au</sub> Cl <sub>4</sub> .....	68

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Sintesis Nanopartikel .....	9
2. Buah Kakao ( <i>Theobroma cacao</i> L.).....	16
3. Struktur Flavonoid, Tanin dan <i>Epigallocatechin gallate</i> (EGCG) .....	19
4. Reaksi Uji Alkaloid dengan Reagen Dragendorff .....	35
5. Reaksi Uji Flavonoid menggunakan Reagen $Pb(CH_3COO)_2$ .....	35
6. Reaksi Uji Saponin .....	36
7. Hipotesis Mekanisme Sintesis Nanopartikel Emas.....	37
8. Difraktogram XRD dari Nanopartikel Emas .....	39
9. Spektra FTIR (a) ekstrak kulit buah kakao (b) Nanopartikel emas .....	40
10. Hasil Analisis Nanopartikel Emas dengan SEM .....	42
11. Analisis Nanopartikel Emas dengan EDX pada Perbesaran 3000×.....	43
12. Hasil Pengamatan Uji Antibakteri .....	44

## DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

FTIR	: <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>
XRD	: <i>X-Ray Diffraction (XRD)</i>
SEM-EDX	: <i>Scanning Electron Microscopy</i>
nm	: nanometer
Au	: Emas
AuNPs	: Sintesis Nanopartikel Emas
EGCG	: <i>Epigallocatechin Gallate</i>
mM	: millimolar
UV-Vis	: <i>UV-Visible Spectrometer</i>
mm	: millimeter

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Dewasa ini, perkembangan teknologi mengalami perubahan yang sangat cepat serta inovasi yang menarik, baik di bidang produksi, ukuran maupun bentuk yang dihasilkan. Perkembangan ini dapat berupa sintesis, desain dan penerapan dari sebuah material atau perangkat dimana bentuk dan juga ukurannya telah menggunakan skala nano yang disebut sebagai nanoteknologi (Kaushik dkk., 2010). Dalam bidang nanoteknologi, mayoritas aktivitas difokuskan pada sintesis nanopartikel baru dengan bentuk dan ukuran yang berbeda serta mempunyai efek bioaktivitas yang dapat diaplikasikan dalam berbagai bidang. Hal ini diketahui memiliki sifat multifungsional dan aplikasi yang menarik dalam berbagai keadaan seperti nutrisi dan energi serta sebagai pendukung zat aktif dalam suatu produk pangan maupun obat untuk mengatur kecepatan pelepasan senyawa zat aktif, meningkatkan kelarutan, dan meningkatkan penyerapan dalam tubuh (Azizi dkk., 2013; Inbakandan dkk., 2012; Chandran dkk., 2006).

Nanopartikel dengan karakteristik ukuran 1-100 nm merupakan partikel koloid padat yang mengandung materi makromolekul dan memiliki sifat-sifat atau karakteristik yang unik yakni ukurannya yang kecil dan mempunyai luas permukaan yang besar (Ramkumar dkk., 2016; Nath dan Banerjee, 2013). Sifat-sifat tersebut memainkan peranan penting dalam pemanfaatan nanopartikel dalam berbagai bidang seperti monitoring lingkungan dan elektronik serta dapat digunakan untuk pengobatan dan lain-lain (Kurniasari dan Atun, 2017).

Karakteristik spesifik dari nanopartikel bergantung pada ukuran, distribusi dan morfologi partikel (Masykuroh dan Puspasari, 2020). Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi ukuran partikel dalam sintesis yaitu temperatur larutan, konsentrasi garam, dan agen pereduksi serta waktu reaksi. Nanopartikel logam banyak menarik perhatian karena aplikasinya yang luas antara lain pada bidang kesehatan dan biomedis sebagai terapi kanker dan antibakteri, pada bidang pangan sebagai sensor analisa kualitas makanan, pada bidang lingkungan sebagai pengolahan air limbah, pada bidang industri kimia sebagai katalis bahan kimia dan pigmen nano, bidang elektronik sebagai sensor dengan sensitivitas yang tinggi, dan pada bidang tekstil sebagai bahan anti noda serta bahan penutup luka (Keath dkk., 2015).

Secara umum, nanopartikel dapat disintesis dengan dua pendekatan. Pendekatan pertama adalah pendekatan *top-down*, yaitu pendekatan dengan memecahkan bahan berukuran besar menjadi partikel berukuran nanometer dengan menggunakan penggiling *ultrafine*, laser, dan penguapan diikuti dengan pendinginan. Pendekatan kedua adalah pendekatan *bottom-up* yaitu dengan menghimpun atau mengelompokkan atom, molekul atau klaster untuk membentuk partikel berukuran nanometer dengan menggunakan abrasi laser (Nengsih, 2020). Kedua metode ini memiliki keunggulan yaitu memiliki stabilitas nanopartikel yang lebih baik dibandingkan dengan metode lainnya, namun kedua metode tersebut membutuhkan energi yang besar, penggunaan pelarut yang toksik dan berbahaya khususnya untuk lingkungan serta penggunaan biaya yang tinggi (Mittal dkk., 2013). Oleh karena itu, metode sintesis nanopartikel yang ramah lingkungan dibutuhkan untuk menutupi kekurangan dari metode-metode tersebut (Shi dkk., 2014).

Logam yang banyak dikembangkan menjadi nanopartikel yaitu emas (Au), perak (Ag), platina (Pt), dan Paladium (Pd) (Wiyani dkk., 2020). Nanopartikel emas merupakan salah satu nanopartikel logam yang paling banyak disintesis dalam bentuk ionnya karena ion emas diketahui memiliki aktivitas sebagai peredam radikal bebas yang dapat menimbulkan kerusakan pada berbagai sel yang menyebabkan penuaan dan kerusakan sel sehingga nanopartikel emas umumnya diaplikasikan sebagai biosensor, antibakteri, antioksidan, dan antikanker (Fazrin dkk., 2020).

Sifat nanopartikel emas berbeda dengan emas dalam bentuk ruahnya. Logam emas memiliki bentuk padat kuning dan *inert* sementara nanopartikel emas berwarna merah anggur. Interaksi partikel dan pembentukan jaringan nanopartikel emas merupakan kunci dalam penentuan sifat nanopartikel. Diameter nanopartikel emas berhubungan dengan luas permukaan koloid emas secara keseluruhan, semakin kecil diameter nanopartikel emas, maka akan semakin tinggi aktivitasnya. Nanopartikel emas memiliki kecenderungan sama dengan nanopartikel perak dari segi struktur kristal. Sifat dari nanopartikel yang cenderung untuk bermigrasi karena adanya gaya antar partikel yang kuat sehingga partikel-partikel tersebut akan mendekat dan berkumpul membentuk klaster. Pembentukan klaster nanopartikel emas dengan bertambahnya waktu kontak merupakan penyebab terjadinya perubahan kepekatan warna koloid nanopartikel emas (Wiyani dkk., 2020).

Sintesis nanopartikel emas dapat dilakukan dengan berbagai metode kimia seperti fotokimia dan reduksi kimia. Penggunaan sinar radiasi pada metode fotokimia dapat menimbulkan efek samping dan kurang praktis untuk diterapkan.

*Green synthesis* merupakan solusi yang dapat mengatasi kekurangan dari metode-metode fisika dan kimia karena kemampuannya untuk mensintesis nanopartikel dengan biaya yang murah, ramah lingkungan, dapat dilakukan dalam skala yang besar, tidak membutuhkan tekanan dan suhu yang tinggi serta tidak menggunakan bahan-bahan yang berbahaya. Metode ini menggunakan proses yang sederhana dengan menggunakan ekstrak biologis dari bahan-bahan alam seperti bakteri, tumbuhan, hewan, virus, dan berbagai bahan alam lainnya. Metode ini juga melibatkan proses reduksi ion logam menjadi logam dengan bilangan oksidasi 0 dimana ekstrak bahan alam akan berperan sebagai agen pereduksi. Bahan-bahan alam yang dapat dijadikan sebagai pereduksi ion logam termasuk bahan alam dari lingkungan terrestrial, bahan alam laut, mikroorganisme, dan lain-lain (Ramkumar dkk., 2016; Asmatunisha dan Kathiresan, 2013).

Beberapa jenis tumbuhan mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, terpenoid/steroid, fenolik, dan saponin yang dapat mereduksi suatu zat menjadi ukuran nanopartikel salah satunya yaitu buah kakao (*Theobroma cacao* L.). Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan salah satu komoditas perkebunan yang memiliki prospek cerah karena harganya relatif tinggi, mudah dipasarkan serta mempunyai arti ekonomi sebagai penghasil devisa negara. Hingga saat ini petani kakao hanya memanfaatkan bijinya saja, sedangkan limbah dari kulit kakao tidak dimanfaatkan dan dibuang begitu saja. Seiring dengan peningkatan produksi kakao maka limbah yang dihasilkan semakin meningkat pula (Chusniasih dan Tutik, 2020).

Kulit buah kakao diketahui mengandung senyawa aktif flavonoid dan tanin terkondensasi atau terpolimerisasi, seperti antosianidin, katekin, dan

leukoantosianidin yang banyak terikat dengan glukosa. Senyawa-senyawa bioaktif tersebut diketahui memiliki sifat antibakteri serta kemampuannya sebagai bioreduktor alami. Analisis fitokimia menunjukkan kandungan positif alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin dari kulit buah kakao. Senyawa tersebut merupakan salah satu golongan senyawa fenol yang diduga dapat bertindak sebagai agen pereduksi alami serta sebagai antibakteri (Mulyatni, 2012; Herman dkk., 2020).

Penelitian terkait yang dilakukan oleh Mulyatni dkk., (2012) membuktikan bahwa pemberian ekstrak kulit buah kakao dapat bersifat sebagai antibakteri karena memberikan pengaruh signifikan terhadap bakteri patogen dengan cara menghambat proses pertumbuhan bakteri tersebut. Penghambatan pertumbuhan bakteri dengan menggunakan ekstrak kulit buah kakao ditandai dengan terbentuknya zona hambat pada kertas cakram yang sebelumnya telah direndam dengan ekstrak kulit buah kakao yang diduga berasal dari aktivitas senyawa aktif metabolit sekunder yang terlarut.

Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian untuk mensintesis nanopartikel emas dengan memanfaatkan ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai bioreduktor serta uji aktivitasnya sebagai antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis*.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang, maka dapat ditarik beberapa rumusan masalah sebagai berikut :

1. bagaimana potensi ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai bioreduktor dalam sintesis nanopartikel emas?

2. bagaimana karakteristik nanopartikel emas yang dihasilkan dengan memanfaatkan bioreduktor ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.)?
3. bagaimana efektivitas antibakteri nanopartikel emas hasil sintesis dari ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.)?

### **1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Maksud Penelitian**

Maksud dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai bioreduktor dalam sintesis nanopartikel emas dan untuk menguji bioaktivitasnya sebagai antibakteri.

#### **1.3.2 Tujuan Penelitian**

Untuk menjawab permasalahan yang telah dirumuskan, maka penelitian ini bertujuan untuk :

1. mensintesis nanopartikel emas menggunakan ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai bioreduktor.
2. mengkarakterisasi nanopartikel emas yang dihasilkan dengan memanfaatkan bioreduktor ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.).
3. menguji bioaktivitas antibakteri nanopartikel emas hasil sintesis dari ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.).

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi mengenai potensi ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai bioreduktor untuk mensintesis nanopartikel emas dan potensi nanopartikel emas sebagai antibakteri serta diharapkan dapat menjadi alternatif produksi nanopartikel emas yang ramah lingkungan (*green synthesis*) dan dapat diaplikasikan dalam berbagai bidang khususnya dalam bidang kesehatan dan biomedis.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Nanopartikel**

Dewasa ini, nanoteknologi menjadi salah satu bidang ilmu yang penting dan menarik. Perkembangan nanoteknologi merupakan salah satu teknologi yang melibatkan molekul dengan ukuran kurang dari 100 nanometer. Teknologi ini sedang berkembang pesat karena pengaplikasiannya yang sangat luas seperti dalam bidang lingkungan, elektronik, optis, dan biomedis hingga saat ini menjadi tren dalam pengembangan dan peningkatan kualitas produk pangan fungsional. Penelitian ini berkembang sangat pesat dengan beberapa jenis seperti *nanomedicine*, nanoemulsi dan nanopartikel (Prasetiowati dkk., 2018; Fitri dkk., 2020).

Nanopartikel merupakan partikel koloid padat dengan diameter 1-100 nm yang mengandung materi makromolekul dan dapat digunakan untuk pengobatan yang diketahui berfungsi sebagai pembawa obat yang senyawa aktifnya telah terlarut, terjerat dan terenkapsulasi. Nanopartikel yang banyak menarik perhatian adalah nanopartikel logam karena aplikasinya yang luas antara lain dalam bidang optik, elektronik, katalis, dan kedokteran. Nanopartikel logam memiliki sifat optik dan elektronik yang tidak ditemukan pada ukuran makro. Hanya elektron-elektron dengan elektron bebas yang memiliki resonansi plasmon pada spektrum cahaya tampak yang dapat memberikan warna yang baik. Ukuran partikel dan distribusinya merupakan karakteristik penting dari sistem nanopartikel. Hal tersebut ditentukan dalam distribusi *in vivo*, biologis, toksisitas, dan kemampuan

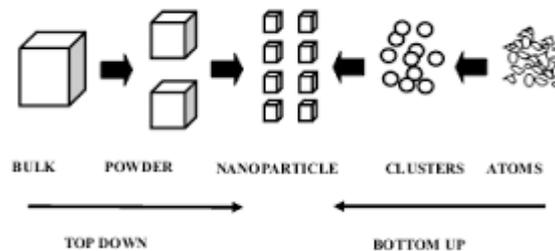
target sistem nanopartikel (Kurniasari dan Atun, 2017). Beberapa aplikasi nanopartikel dalam berbagai bidang tercantum dalam Tabel 1.

**Tabel 1.** Aplikasi nanopartikel dalam berbagai bidang (Pal dkk., 2011).

No.	Bidang	Aplikasi
1	Tekstil	Bahan anti noda, bahan penutup luka, bahan penghantar listrik, serta polimer alami/sintesis.
2	Kesehatan dan biomedis	Obat, alat kesehatan, terapi kanker, biomarker, antimikroba pengantar obat, antibakteri.
3	Industri	Katalis bahan kimia, cat, pigmen nano, tinta nano, teknik refraktif indeks, bahan penghantar listrik.
4	Pangan dan pertanian	Nautrasilitikal, fungisida, katalis pemroses makanan, sensor analisis keamanan pangan dan pengemas makanan.
5	Elektronik	Sensor dengan sensitivitas tinggi, <i>computer quantum</i> , sensor kimia, sensor gas, magnet berkekuatan tinggi, laser kuantum.
6	Lingkungan	Sensor pengawas polusi, katalis lingkungan, penangkap polutan, penanganan air limbah, penyaring pemurnian air dan udara.
7	Energi	Katalis <i>fuel cell</i> , fotokatalis produksi hidrogen, katalis zat tambah bahan bakar, biosensor, senjata, peningkatan sensorik.

Pada umumnya terdapat dua pendekatan untuk mensintesis nanopartikel. Pendekatan pertama adalah pendekatan *top-down*, yaitu pendekatan dengan memecahkan bahan berukuran besar menjadi partikel berukuran nanometer dengan menggunakan penggiling *ultrafine*, laser, dan penguapan diikuti dengan pendinginan. Pendekatan kedua adalah pendekatan *bottom-up* yaitu dengan menghimpun atau mengelompokkan atom, molekul atau klaster untuk membentuk partikel berukuran nanometer dengan menggunakan abrasi laser (Nengsih, 2020). Kedua metode ini memiliki keunggulan yaitu memiliki stabilitas nanopartikel yang lebih baik dibandingkan dengan metode lainnya, namun memiliki kekurangan berupa adanya kehadiran spesies kimia beracun yang dapat memberikan efek samping terhadap aplikasi biologis, biaya yang mahal,

penggunaan bahan kimia yang dapat menyebabkan pencemaran lingkungan (Mittal dkk., 2013). Oleh karena itu, berbagai metode yang telah dikembangkan para ahli bermunculan yang dinamakan *green synthesis* berbasis tumbuhan sebagai bioreduktor untuk sintesis nanopartikel karena metode ini memiliki beberapa keunggulan seperti ramah lingkungan dan membutuhkan biaya yang kecil (Singh dkk., 2018; Shams dkk., 2013; Keath dkk., 2015). Perkiraan proses pembentukan nanopartikel diperlihatkan pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Sintesis nanopartikel (Nengsih, 2020).

Secara kimia, nanopartikel memiliki luas permukaan yang besar dengan intensitas yang tinggi pada lapisan permukaan sehingga jauh lebih reaktif dibandingkan dengan molekul biasa. Selain itu ukuran nanopartikel di bawah 50 nm, berdasarkan hukum fisika klasik akan memberikan efek kuantum, menimbulkan ilusi optik, serta memiliki perilaku elektrik dan magnetik yang berbeda dari partikel biasa. Hal ini menyebabkan nanopartikel memiliki sifat fisik yang berguna seperti sifat konduktornya yang mampu menyimpan atau mentransfer panas, sedangkan perubahan biologis yang terlihat mampu memodifikasi nanopartikel menjadi bakterisida (Mittal, 2013; Nagarajan, 2008; Lauterwasser, 2007).

Menurut Abdullah dan Khairurrijal (2009), pada umumnya setiap orang ingin memahami lebih mendalam mengapa nanomaterial dapat memiliki sifat atau

fungsi yang berbeda dari material sejenis dengan ukuran besar. Ada dua hal utama yang membuat nanopartikel berbeda dengan partikel sejenis dalam ukuran yang besar, sebagai berikut :

1. nanopartikel memiliki ukuran yang kecil sehingga nanopartikel memiliki rasio antara luas permukaan dan volume yang lebih besar jika dibandingkan dengan partikel sejenis dalam ukuran besar. Hal ini membuat nanopartikel lebih reaktif. Reaktivitas partikel ditentukan oleh fraksi atom-atom di permukaan, karena hanya atom-atom tersebut yang bersentuhan langsung dengan partikel lain ketika terjadi reaksi kimia.
2. ukuran partikel berada dalam orde nanometer, maka hukum fisika yang berlaku didominasi oleh hukum-hukum fisika kuantum. Hukum-hukum fisika klasik yang umumnya diterapkan pada partikel ukuran besar mulai menunjukkan penyimpangan prediksi.

## **2.2 Logam Emas (Au)**

Emas adalah satu unsur kimia dengan simbol Au dan mempunyai bilangan atom 79 yang merupakan unsur logam padat, berwarna kuning dan berkilauan serta stabil dalam udara dan air tanpa mengalami oksidasi. Emas digunakan dalam industri elektronik karena tidak berkarat dan mempunyai sifat penghantar listrik yang tinggi (Nengsih, 2020). Logam ini memiliki beberapa sifat fisik yang khas, diantaranya: tidak bereaksi dengan zat kimia lainnya kecuali klorin, fluorin dan akuaregia, bersifat lembut, lunak (*malleable*); mudah dibentuk (*ductile*); tidak mudah bereaksi; tahan korosi dan berbentuk padat yang banyak digunakan untuk perhiasan, mata uang, tropi, atau patung. Logam emas terdapat di alam sebagai

unsur bebas dalam bentuk gumpalan (*nugget*) atau pasir halus dalam bebatuan dalam vena-vena batu atau dalam bentuk alluvial (Sunardi, 2006).

Beberapa sifat fisika dan kimia logam emas tercantum dalam Tabel 2.

**Tabel 2.** Sifat fisik dan kimia emas (Cotton dan Wilkinson, 2013).

Sifat	Nilai
Nomor atom	79
Massa atom relatif	196,9665 gram.mol <sup>-1</sup>
Konfigurasi elektron	[Xe] 4f <sup>14</sup> 5d <sup>10</sup> 6s <sup>1</sup>
Titik leleh	1.337 K (1.064°C)
Titik didih	31.301
Jari-jari atom	1,46 Å
Massa jenis (pada 273 K)	19,32 gram/cm <sup>3</sup>
Keelektronegatifan (skala pauling)	2,54
Sifat magnetik	Diamagnetik

### 2.3 Sintesis Nanopartikel Emas

Perkembangan teknologi saat ini mampu menghasilkan emas dalam bentuk partikel berukuran kurang dari 100 nm. Pada ukuran ini emas dikenali sebagai nanopartikel emas atau nanoemas yang dapat dibuat dalam bentuk serbuk, koloid, atau partikel yang terlarut dalam air. Emas (Au) dapat disintesis baik secara kimia yaitu dengan mereduksi emas dalam bentuk garamnya, maupun secara fisika pada emas dalam bentuk ruahnya. H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> mempunyai kelebihan yang menonjol dibandingkan emas dalam bentuk ruahnya, yaitu mempunyai sifat optik dan elektronik dengan toksisitas yang rendah. Larutan emas (Au) memberikan rentang warna dari merah, coklat, hingga ungu seiring dengan peningkatan ukuran inti dari 1-100 nm (Wiyani dkk., 2020).

Nanopartikel emas merupakan salah satu produk nanosains yang telah dikembangkan dan memiliki banyak manfaat karena ion emas diketahui memiliki

aktivitas sebagai peredam radikal bebas yang dapat menimbulkan kerusakan di berbagai bagian sel yang menyebabkan penuaan. Bentuk dan ukuran nanopartikel emas sangat penting dalam penentuan sifat optik, listrik, magnet, katalis, dan antioksidan. Semakin kecil ukuran partikel semakin besar efek antioksidannya. Faktor-faktor yang mempengaruhi ukuran partikel dalam sintesis yaitu temperatur larutan, konsentrasi garam dan agen pereduksi serta waktu reaksi. Sifat nanopartikel emas berbeda dengan emas dalam bentuk logam. Logam emas memiliki bentuk padat kuning dan *inert* sementara nanopartikel emas berwarna merah anggur. Interaksi partikel dan pembentukan jaringan nanopartikel emas merupakan kunci dalam penentuan sifat nanopartikel. Nanopartikel emas juga memiliki berbagai ukuran dan memiliki bentuk berbeda seperti misalnya bola, oktahedral, dekahedral, tetrahedral, nanotriangles, nanoprisms, heksagonal trombosit dan nanorods (Wiyani dkk., 2020).

Sintesis nanopartikel emas (AuNPs) merupakan material berukuran kecil, tetapi ketersediaannya dalam jumlah besar menjadi penting karena banyak diperlukan untuk aplikasi komersial dan industri (Khan, 2018). Keadaan oksidasi emas meliputi  $Au^{+1}$  (aurous),  $Au^{+3}$  (*auric/aurat*), dan yang tidak teroksidasi adalah  $Au^0$ .  $Au^0$  adalah kondisi akhir yang diinginkan untuk nanopartikel. Jadi, langkah utama yang melibatkan sintesis nanopartikel emas adalah mereduksi  $Au^{+1}$  atau  $Au^{+3}$  menjadi  $Au^0$  dengan menambahkan donor elektron (agen pereduksi) dalam reaksi. Senyawa pilihan bagi sebagian besar peneliti adalah asam kloroaurat ( $HAuCl_4$ ) dengan emas dalam tingkat oksidasi  $Au^{+3}$ . Beberapa penelitian mengenai sintesis nanopartikel emas tercantum dalam Tabel 3 (Fazrin dkk., 2020).

**Tabel 3.** Penelitian mengenai sintesis nanopartikel emas (Fazrin dkk., 2020)

<b>Jenis Tanaman</b>	<b>Senyawa Pereduksi</b>	<b>Aplikasi Produk Nanopartikel</b>	<b>Referensi</b>
Jambu biji merah ( <i>Psidium guajava</i> L.)	Ekstrak etanol buah jambu biji merah ( <i>Psidium guajava</i> L.)	Antioksidan	Sovawi, Harjono, dan Kusuma, 2016
Jati ( <i>Tectona grandis</i> )	Ekstrak air daun jati termodifikasi <i>Mercaptopropionic Acid</i> (MPA)	Aktivitas bioreduktor	Yasser dan Widiyanti, 2019
Jambu bol putih ( <i>Syzygium malaccense</i> )	Ekstrak etanol daun jambu bol putih ( <i>Syzygium malaccense</i> )	Antioksidan	Wiyani GM, Putri, dan Syahrir, 2020
Daun sirih ( <i>Piper betle</i> )	Ekstrak daun sirih ( <i>Piper betle</i> )	Antibakteri	Astri, Irianti, dan Martien, 2020
Singkong karet ( <i>Manihot glaziovii</i> )	Ekstrak daun singkong karet ( <i>Manihot glaziovii</i> )	Antikanker	Aprilia dkk., 2020

Diameter hasil AuNPs berhubungan dengan luas permukaan koloid emas secara keseluruhan, semakin kecil diameter nanopartikel emas, maka akan semakin tinggi aktivitasnya. Nanopartikel emas umumnya mempunyai struktur *face center cubic* (FCC) yang memiliki kecenderungan sama dengan nanopartikel perak dari segi struktur kristal. Sifat dari nanopartikel yang cenderung untuk beragregasi karena adanya gaya antar partikel yang kuat sehingga partikel-partikel tersebut akan mendekat dan berkumpul membentuk klaster. Pembentukan klaster nanopartikel emas dengan bertambahnya waktu kontak merupakan penyebab terjadinya kepekatan warna koloid nanopartikel emas (Wiyani dkk., 2020).

Ukuran AuNPs dapat dikontrol dengan berbagai cara, salah satu cara yang dapat dilakukan adalah mengatur jenis atau konsentrasi dari agen pereduksinya. Reaksi reduksi yang cepat akan membentuk nanopartikel yang banyak pada

permulaan sintesisnya. Jumlah nanopartikel yang banyak ini akan menghambat nanopartikel yang besar. konsentrasi larutan yang homogen akan membantu terbentuknya nanopartikel emas yang homogen (Wiyani dkk., 2020).

Sintesis nanopartikel emas dapat dilakukan dengan berbagai metode kimia seperti fotokimia, reduksi kimia dan sonokimia, namun produksi nanopartikel yang ramah lingkungan mulai gencar dikembangkan. Biosintesis dengan metode reduksi dalam preparasi nanopartikel emas merupakan suatu metode sebagai agen pereduksi. Mikroorganisme yang digunakan adalah jamur, khamir dan bakteri. Penggunaan mikroorganisme dalam metode reduksi ini memiliki kelemahan seperti pemeliharaan kultur yang sulit dan waktu sintesis yang lama. Pemanfaatan tumbuhan sebagai bioreduktor menjadi alternatif dalam sintesis nanopartikel emas karena paling aman, mudah, dan biaya produksi yang relatif murah (Sovawi, 2016).

Nanopartikel emas dapat disintesis dengan prinsip ramah lingkungan (*green synthesis*) yaitu memanfaatkan alam seperti ekstrak tumbuhan. *Green synthesis* merupakan solusi yang dapat mengatasi kekurangan dari metode-metode fisika dan kimia karena kemampuannya untuk mensintesis nanopartikel dengan biaya yang murah, ramah lingkungan, dapat dilakukan dalam skala yang besar, tidak membutuhkan tekanan dan suhu yang tinggi serta tidak menggunakan bahan-bahan yang berbahaya. Metode ini menggunakan proses yang sederhana dengan menggunakan ekstrak biologis dari bahan-bahan alam seperti bakteri, tumbuhan, hewan, virus, dan berbagai bahan-bahan alam lainnya. Metode ini juga melibatkan proses reduksi ion logam menjadi logam dengan bilangan oksidasi 0 dimana ekstrak bahan alam akan berperan sebagai

agen pereduksi. Bahan-bahan alam yang dapat dijadikan sebagai pereduksi ion logam termasuk bahan alam dari lingkungan terrestrial, bahan alam laut, mikroorganisme, dan lain-lain (Ramkumar dkk., 2016; Asmatunisha dan Kathiresan, 2013).

Potensi ekstrak tanaman dalam mensintesis nanopartikel karena adanya senyawa metabolit sekunder dalam tanaman seperti flavonoid dan tanin yang mampu mereduksi suatu zat menjadi ukuran nanopartikel. Bahan alam sebagai bioreduktor berperan untuk memberikan kontribusi pada pengurangan bahan reduktor anorganik. Bioreduktor ini memiliki keutamaan seperti tidak menghasilkan produk sampingan atau hanya menghasilkan produk samping yang ramah lingkungan yang mudah dipisahkan dan didapatkan dengan mudah karena merupakan bahan alam. *Green synthesis* nanopartikel emas didasarkan atas kemampuan gugus aktif suatu bahan alam untuk mereduksi logam dalam ukuran makro menjadi ukuran nanopartikel. Indikasi terbentuknya nanopartikel emas ditandai dengan perubahan warna dari kuning menjadi merah-ungu. Selain itu, terbentuknya puncak panjang gelombang kisaran 500-600 nm pada pengukuran menggunakan spektroskopi UV-Vis (Yasser dan Widiyanti, 2019).

## **2.4 Kakao (*Theobroma cacao* L.)**

### **2.4.1 Morfologi Kakao (*Theobroma cacao* L.)**

Kakao merupakan tanaman kauliflori yang artinya bunga dan buah tumbuh pada batang dan cabang tanaman dan tinggi pohonnya dapat mencapai 10 meter. Bunga kakao disusun oleh 5 daun kelopak yang bebas satu sama lain, 5 daun mahkota, 10 tangkai sari yang tersusun dalam 2 lingkaran dan masing-masing terdiri dari 5 tangkai sari tetapi hanya satu lingkaran yang fertil, dan 5 daun buah

yang bersatu. Bunga kakao berwarna putih, ungu, atau kemerahan. Warna yang kuat terdapat pada benang sari dan daun mahkota (Susanto, 1994).

Cabang pada tanaman kakao bersifat dimorfisme artinya memiliki dua bentuk tunas vegetatif yaitu tunas ortotrop yang arah pertumbuhannya ke atas dan tunas plagiotrop yang arah pertumbuhannya ke samping. Daun kakao pada tunas ortotrop panjang tangkai daunnya 7,5-10 cm sedangkan pada tunas plagiotrop panjang tangkai daunnya sekitar 2,5 cm. Daun kakao mempunyai dua persendian yang terletak di pangkal dan ujung tangkai daun sehingga memungkinkan pergerakan daun menyesuaikan ke arah datangnya sinar matahari. Bentuk helai daun bulat memanjang (*oblongus*), ujung daun runcing (*acutus*). Susunan tulang daun menyirip dan menonjol ke permukaan bawah helai daun. Tepi daun rata, daging daun tipis. Panjang daun 30 cm dan lebarnya 20 cm. Permukaan daun licin dan mengkilap (Susanto, 1994). Secara morfologi bentuk buah kakao dapat dilihat seperti pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) (Susanto dkk., 2014)

Buah kakao yang masih muda berwarna hijau atau hijau agak putih jika sudah masak akan berwarna kuning. Kulit buah tebal tetapi lunak dan permukaannya kasar, panjang buah kakao 10-30 cm dan lebarnya 8-12 cm. Buah kakao memiliki sekitar 20-50 butir biji, yang tersusun dalam lima baris dan

menyatu pada bagian poros buah. Biji dibungkus oleh daging buah atau *pulp* yang berwarna putih dan rasanya manis (Susanto, 1994).

#### **2.4.2 Taksonomi Kakao (*Theobroma cacao* L.)**

Tanaman kakao berasal dari hutan-hutan tropis di Amerika Tengah dan di bagian utara Amerika Selatan. Tanaman kakao diperkenalkan oleh bangsa Spanyol di Indonesia pada tahun 1560 di Sulawesi Utara. Indonesia merupakan negara ketiga penghasil kakao di Indonesia ditanam di daerah yang beriklim tropis pada ketinggian 1-600 meter di atas permukaan air laut dengan suhu ideal pertumbuhan tanaman kakao sekitar 30-32°C. Daerah penghasil kakao terbanyak terdapat di Sulawesi, Sumatera, Bali, Jawa Timur, dan Kalimantan (Wahyudi, 2008).

Menurut Suwanto, dkk., (2014), klasifikasi kakao (*Theobroma cacao* L.) dapat digolongkan sebagai berikut :

Kingdom : Plantae  
Divisi : Spermatophyta  
Kelas : Dicotyledoneae  
Bangsa : Malvales  
Suku : Sterculiaceae  
Marga : Theobroma  
Jenis : Theobroma cacao L.

Kulit buah kakao mengandung 74% holoselulosa, 35,4% selulosa, 37% hemiselulosa, dan 14,7% lignin (Rambat dkk., 2015). Kulit buah kakao kaya akan protein, serat dan komponen bioaktif. Komponen bioaktif ini termasuk senyawa polifenol dengan jumlah kadar total yaitu 80% atau sekitar 321,95 ppm yang

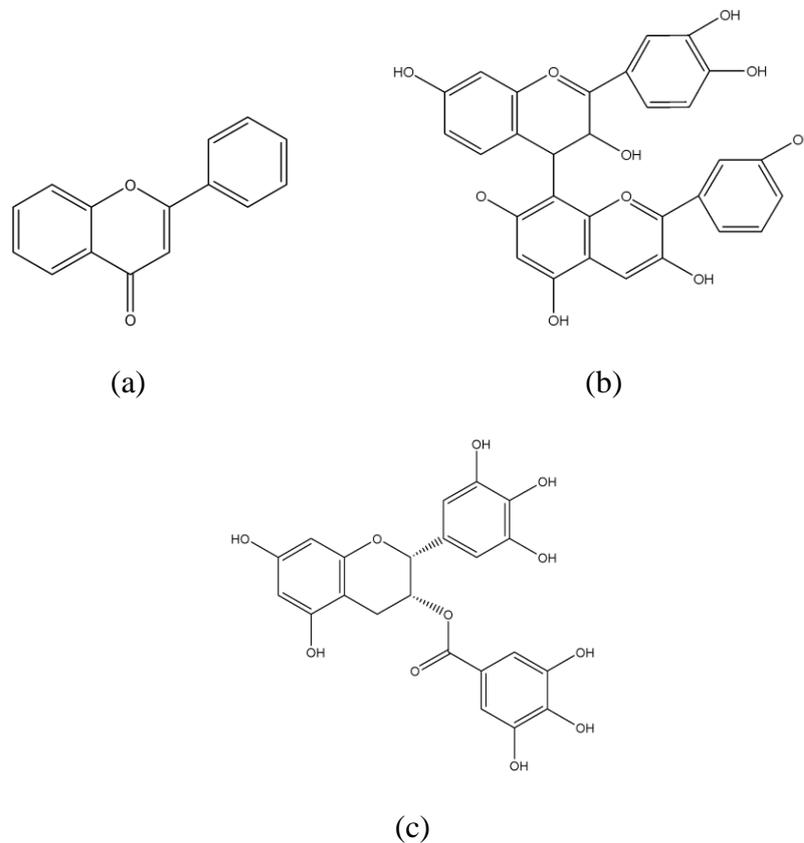
dapat bermanfaat sebagai antioksidan (Padilla dkk., 2015; Miranda dkk., 2019). Antioksidan sendiri merupakan senyawa atau molekul yang dapat mencegah proses oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Radikal bebas ini merupakan molekul yang orbital terluarnya mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dan sangat reaktif serta tidak stabil, sehingga akan bereaksi dengan atom atau molekul di sekitarnya yang terus menerus terjadi (Yuliani dan Gazali, 2020). Berikut hasil uji kualitatif skrining fitokimia ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) tercantum pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil Pengujian Kualitatif Skrining Fitokimia (Herman dkk., 2020).

Jenis Pengujian	Hasil Uji
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Tanin	+
Saponin	+
Steroid/Triterpenoid	-
Fenolik	+

Kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan limbah dari bahan alami yang penggunaannya dapat diaplikasikan sebagai bioreduktor dengan memanfaatkan kandungan berupa kadar kelompok gugus fungsi polifenol seperti kandungan flavonoid, tanin dan *epigallocatechin gallate* (EGCG) yang tergolong tinggi pada kulit buah kakao sehingga dapat dimanfaatkan dalam pembuatan sintesis nanopartikel emas. Bioreduktor berperan sebagai pereduksi dan penstabil ion, sehingga proses ini dapat dikategorikan sebagai salah satu pembuatan partikel berskala nano berbasis bioteknologi menggunakan prinsip kerja fisika dan kimia (Adzani dan Ari, 2020). Kelompok -OH dan -NH dalam senyawa metabolit sekunder pada kulit buah kakao mampu menyumbangkan elektron untuk Au<sup>+3</sup> dan

$\text{Au}^0$  yang kemudian berubah menjadi nanopartikel emas. Senyawa EGCG dalam polifenol yang terkandung dalam kulit buah kakao ini memiliki  $-\text{OH}$  yang merupakan kelompok gugus fungsi yang digunakan sebagai agen pereduksi dalam biosintesis (Nugroho dkk., 2021). Beberapa senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada buah kakao dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3.** (a) struktur flavonoid (b) struktur tanin (c) struktur *epigallocatechin gallate* (EGCG) (Nugroho dkk., 2021)

Kulit buah kakao diketahui memiliki kandungan metabolit sekunder berupa flavonoid yang dapat dimanfaatkan sebagai antimikroba dan antivirus karena bersifat lipofilik. Flavonoid merupakan senyawa polar sehingga umumnya larut dalam pelarut etanol, metanol, butanol, aseton, dimetil sulfoksida, dimetil formamida, dan air. Alkaloid juga merupakan salah satu metabolit sekunder yang terkandung dalam kulit buah kakao. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai

antimikroba dan antiparasit sehingga berperan dalam perlindungan tanaman sebagai agen kontrol dan mampu berikatan dengan DNA. Selain itu, metabolit sekunder tanin dan saponin yang juga terdapat pada kulit buah kakao memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Keberadaan senyawa tersebut di dalam kulit buah kakao diduga menjadi salah satu penyebab tidak ditemukannya penyakit pada tanaman kakao yang disebabkan oleh bakteri (Adha dan Ibrahim, 2021; Sukatik dkk., 2020; Wicaksono dkk., 2016). Kandungan senyawa fenol pada kulit kakao dapat digunakan sebagai antibakteri dengan cara denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri melalui proses absorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen, akan tetapi hal tersebut belum banyak dikembangkan (Loppies dan Medan, 2014).

## **2.5 Antibakteri**

Bakteri merupakan mikroorganisme prokariotik yang dapat memberikan dampak positif bagi kesehatan sebagai flora normal, tetapi dapat juga memberikan dampak negatif dengan menimbulkan penyakit atau bersifat patogen (Kurniawan dkk., 2019). Senyawa antibakteri merupakan senyawa yang dapat mengganggu pertumbuhan atau metabolisme bakteri. Berdasarkan sifat toksisitasnya, antibakteri dapat bersifat membunuh bakteri (bakterisidal) dan menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik). Antibakteri bakteriostatik hanya menghambat pertumbuhan bakteri dan tidak mematikan, sedangkan bakterisidal dapat membunuh bakteri. Bakteriostatik dapat bersifat bakterisidal jika dalam konsentrasi tinggi. Suatu antibakteri berspektrum luas apabila dapat membunuh bakteri Gram positif dan Gram negatif, spektrum sempit apabila hanya membunuh bakteri Gram positif atau negatif saja, dan spektrum terbatas apabila efektif terhadap satu spesies bakteri tertentu (Purnamaningsih dkk., 2017).

Antibakteri biasanya terdapat dalam suatu organisme sebagai metabolit sekunder. Mekanisme senyawa antibakteri secara umum dilakukan dengan cara merusak dinding sel, mengubah permeabilitas membran, mengganggu sintesis protein, dan menghambat kerja enzim. Aktivitas antibakteri diukur secara *in vitro* untuk menentukan potensi agen antibakteri dalam larutan, konsentrasinya dalam cairan tubuh atau jaringan dan kerentanan mikroorganisme tertentu terhadap obat dengan konsentrasi tertentu. Senyawa yang berperan dalam merusak dinding sel antara lain fenol, flavonoid, dan alkaloid. Senyawa fitokimia tersebut berpotensi sebagai antibakteri alami pada bakteri patogen (Septiani dkk., 2017).

Perbedaan sensitivitas bakteri terhadap antibakteri dapat dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri. Bakteri Gram negatif hanya mengandung sedikit lapisan peptidoglikan dan tidak mengandung asam teikoat, maka dinding bakteri Gram negatif lebih rentan terhadap gangguan fisik, seperti pemberian antibiotik atau bahan antibakteri lainnya. Adapun bentuk zona hambat pada antibakteri ada dua macam yaitu, zona irradikal dan zona radikal. Zona irradikal merupakan zona yang menunjukkan pertumbuhan bakteri tidak terhambat seluruhnya, sehingga pada zona bening tersebut terdapat beberapa koloni bakteri yang dapat bertahan atau resisten. Zona radikal yaitu zona dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri, artinya pertumbuhan bakteri dihambat seluruhnya atau bakteri cenderung sensitif terhadap bahan uji. Klasifikasi respon zona hambat pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona bening meliputi respon lemah (diameter 5 mm), respon sedang (diameter 5-10 mm), dan respon sangat kuat (diameter >20 mm) (Purnamaningsih dkk., 2017; Menon dan Arif, 2018).

Nanopartikel logam merupakan material yang efektif untuk mengontrol mikroorganisme yang patogen dan resisten terhadap antibiotik. Nanopartikel memiliki sifat yang unik yang dapat dimanfaatkan untuk aplikasi bidang

biomedis dan industri. Aplikasi dari nanopartikel termasuk penggambaran (*imaging*), pembuatan obat, elektronik, kosmetik, pelapisan (*coating*), remediasi lingkungan, pembawaan obat target dan gen, teranostik, vaksin, dan biosensor (Khan dkk., 2018; Rai dkk., 2012; Singh dkk., 2015; Bognadovic dkk., 2014).

Salah satu alasan yang menyebabkan ketertarikan ilmuwan dalam sintesis nanopartikel emas adalah kemampuan nanopartikel tersebut untuk dieksplor sebagai agen antimikroba. AuNPs diketahui memiliki efek inhibisi terhadap berbagai strain bakteri dan mikroorganisme, khususnya terdapat dalam proses medis dan industrial. Nanopartikel tersebut merupakan agen yang efektif dengan tahap toksisitas yang rendah, khususnya terhadap sel mamalia, yang merupakan salah satu sifat yang penting dalam bidang biomedis (shamaila dkk., 2016).

Terdapat banyak penelitian yang berhasil menunjukkan sifat antibakteri dari sintesis nanopartikel emas. Suatu penelitian menunjukkan bahwa uji antibakteri dengan menggunakan senyawa pereduksi yang digunakan untuk mensintesis nanopartikel emas tidak menunjukkan sifat antibakteri. Namun nanopartikel yang dihasilkan menunjukkan aktivitas antibakteri. Aktivitas antibakteri maksimum didapatkan dari sintesis nanopartikel emas dengan konsentrasi 300 µg/mL dengan zona inhibisi sebesar 19 mm, 17 mm dan 16 mm pada bakteri *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Bacillus subtilis* (Senthilkumar dkk., 2017).

Khan dkk (2018) melaporkan bahwa sintesis nanopartikel emas yang disintesis dengan menggunakan ekstrak air *Acer pentapomicum* menunjukkan persentase inhibisi sebesar 81% terhadap bakteri *K. pneumonia* dan menunjukkan inhibisi yang signifikan terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Xanthomonas campestris*

setelah 24 jam inkubasi. Dang dkk (2019) juga melaporkan bahwa sintesis nanopartikel emas menunjukkan sifat antibakteri yang signifikan terhadap 11 isolat bakteri termasuk *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Staphylococcus aureus*.

Mekanisme aksi antimikroba dari nanopartikel merupakan informasi yang belum bisa dijelaskan secara tepat. Penemuan mekanisme resistensi mikroorganisme patogen terhadap antibiotik merupakan bidang yang sedang dikembangkan dengan pesat. Mekanisme yang telah dikemukakan mempunyai kekurangan yakni dapat menyebabkan beberapa penyakit infeksi. Hal ini disebabkan oleh beberapa mutasi enzimatik dan genetik pada mikroorganisme patogen. Kekurangan tersebut mendorong ilmuwan untuk menemukan agen antimikroba alternatif yang dapat mengontrol infeksi (Sibanda dan Okoh, 2007; Kollef dkk., 2011).

Menurut Tiwari dan Lee (2013), nanopartikel mempunyai kemampuan untuk melekatkan diri pada membran bakteri dengan interaksi elektrostatis dan mengganggu keutuhannya. Terdapat beberapa pendapat yang dikemukakan tentang mekanisme penghambatan AuNPs terhadap bakteri diantaranya yaitu :

1. AuNPs dapat menyebabkan lubang pada dinding sel sehingga menyebabkan isi sel terbuka, lalu AuNPs akan berikatan dengan DNA sel sehingga menghambat proses transkripsi.
2. AuNPs mengubah potensial membran dan mengganggu aktivitas ATP sintase sehingga menghambat proses metabolisme, lalu merusak sub-unit dari ribosom yang digunakan untuk pengikatan tRNA sehingga akan merusak mekanisme biologis dari sel bakteri.

## 2.6 Karakterisasi Nanopartikel

Menurut Gabor dkk (2008), nanoteknologi yang merupakan bidang interdisipliner dari sains akan melibatkan banyak teknik analitik dan karakterisasi dalam proses elusidasi dari nanomaterial yang telah disintesis. Terdapat kurang lebih 700 teknik yang dapat digunakan untuk karakterisasi dan 100 diantaranya adalah teknik multi sinyal. Teknik-teknik karakterisasi tersebut didasarkan pada 3 jenis fenomena fisika, yakni :

1. sifat analitik (primer) seperti elektron, foton, neutron, ion, dan lain-lain yang dapat dikombinasikan dengan tekanan luar seperti medan listrik, medan magnet dan tekanan mekanikal.
2. jenis pengukuran efek sekunder seperti pelepasan dan absorpsi elektron, radiasi elektromagnetik, perubahan volume dan distorsi mekanis.
3. pemilihan medium, energi, suhu, waktu, intensitas, fasa dan sudut penelitian.

Dalam proses karakterisasi, *probe primer* yang dapat merupakan sebuah pancaran elektron atau foton dari cahaya, berinteraksi dengan analit sehingga menyebabkan perubahan pada kesetimbangan dan akan menunjukkan respon atau reaksi untuk mendapatkan kembali kesetimbangannya. Hal tersebut menyebabkan terjadinya perubahan pada *probe primer*. Contoh perubahan yang dihasilkan dari interaksi tersebut adalah eksitasi elektron dan foton. Modifikasi dari *probe primer* menghasilkan efek sekunder yakni sinyal yang dapat diukur. Terdapat beberapa teknik yang sering digunakan untuk melakukan karakterisasi nanopartikel emas. Diantaranya adalah *Transmission Electron Microscopy* (TEM), *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR), *UV-Visible Spectrometer*, *Particle Size Analyzer*, *X-Ray Diffraction* dan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) (Kelsall dkk., 2005).

### **2.6.1 *Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)***

Menurut Lubis (2015), FTIR adalah suatu teknik yang digunakan untuk mengamati interaksi molekul dengan menggunakan radiasi elektromagnetik yang berada pada panjang gelombang 0,75-1000  $\mu\text{m}$  atau pada bilangan gelombang 13.000-10  $\text{cm}^{-1}$ . Proses analisis sampel menggunakan FTIR adalah sebagai berikut :

1. sumber: energi inframerah yang dipancarkan dari sumber benda hitam yang bercahaya. Sinar ini melewati lubang yang mengontrol jumlah energi yang disampaikan kepada sampel (sampai ke detektor).
2. interferometer: cahaya memasuki interferometer dimana “pengkodean spektral” berlangsung. Menghasilkan sinyal interferogram yang kemudian meninggalkan interferometer.
3. sampel: sinar memasuki kompartemen sampel dimana ia ditransmisikan atau terpantul dari permukaan sampel, tergantung pada jenis analisis yang dilakukan.
4. detektor: sinar akhirnya lolos ke detektor untuk pengukuran akhir.
5. komputer: sinyal yang diukur adalah digital dan dikirim ke komputer dimana transformasi *Fourier* berlangsung. Spektrum inframerah terakhir ini disajikan kepada pengguna untuk interpretasi dan manipulasi lebih lanjut.

### **2.6.2 *UV-Visible Spectrometer***

*UV-Visible Spectrometer* adalah sebuah teknik yang digunakan untuk mengkuantifikasi cahaya yang diabsorpsi dan dihamburkan oleh sebuah sampel. Karakterisasi awal untuk nanopartikel yang telah disintesis dilakukan dengan menggunakan spektroskopi UV-Visibel. Reduksi ion logam yang terjadi dalam

proses sintesis nanopartikel diestimasi dengan mengukur tahap absorpsi dengan menggunakan spektroskopi UV-Visibel. Absorpsi cahaya pada panjang gelombang 200-800 nm adalah range yang umum untuk karakterisasi nanopartikel (Singh, 2016). Secara umum prinsip spektroskopi UV-Visibel yaitu mengukur intensitas cahaya melewati sampel, dan membandingkannya dengan intensitas cahaya sebelum melewati sampel (Lubis, 2015).

### **2.6.3 Scanning Electron Microscopy (SEM)**

Menurut Lubis (2015), SEM adalah sebuah mikroskop elektron yang didesain untuk menyelidiki permukaan dari objek solid secara langsung, yang memiliki perbesaran 10-3000000x, *depth of field* 4-0,4 mm dan resolusi sebesar 1-10 nm. Adapun prinsip kerja dari SEM adalah sebagai berikut :

1. sebuah pistol elektron memproduksi sinar elektron dan dipercepat dengan anoda.
2. lensa magnetik memfokuskan elektron menuju sampel.
3. sinar elektron yang terfokus memindai (*scan*) keseluruhan sampel dengan diarahkan oleh koil pemindai.
4. ketika elektron mengenai sampel maka sampel akan mengeluarkan elektron baru yang akan diterima oleh detektor dan dikirim ke monitor (CRT).

Teknik SEM memiliki kelemahan dalam penggunaannya, yaitu :

1. memerlukan kondisi vakum.
2. hanya mampu menganalisa permukaan saja.
3. memiliki resolusi yang lebih rendah dari TEM.
4. sampel yang digunakan harus bahan yang konduktif, jika tidak konduktor maka sampel perlu dilapisi dengan logam seperti emas.

#### **2.6.4 X-Ray Diffraction (XRD)**

Analisis difraksi sinar-X (XRD) menggunakan prinsip emisi sinar X yang dihasilkan oleh tumbukan elektron dan atom Cr, Fe, Co, Cu, Mo atau W. Analisis XRD dapat memberikan informasi mengenai struktur sampel seperti parameter kisi, orientasi, dan sistem kristal. Analisis XRD juga berguna untuk mengidentifikasi fase sampel semi kuantitatif, dengan menghitung fraksi volume suatu sampel dan perbandingan fraksi area kristalin terhadap fraksi total area. Data yang diperoleh dari analisis XRD berupa grafik hubungan sudut difraksi sinar X pada sampel dengan intensitas sinar yang dipantulkan oleh bahan (Singh, 2016; Ramkumar dkk., 2016).

Fasa identifikasi dan karakterisasi struktur kristal nanopartikel dapat dilakukan dengan menggunakan XRD. Sinar X akan menembus ke dalam serbuk nanopartikel pada kecepatan pengamatan 0,02/menit. Hasil pola difraksi akan dibandingkan dengan standar untuk mendapatkan informasi strukturnya (Singh, 2016; Ramkumar dkk., 2016).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) yang berasal dari Kabupaten Enrekang, akuades, akuabides, akuaregia, logam emas murni, metanol p.a, HCl, pereaksi Dragendorff, Kloramfenikol, plat KLT, etil asetat, biakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Bacillus subtilis*, kertas cakram, *Nutrient Broth* (NB), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *plastic wrap*, *tissue roll*, kertas saring Whatman No. 41 dan *aluminium foil*.

#### **3.2 Alat Penelitian**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu peralatan gelas yang umum digunakan, *Fourier Transform Infrared* (FTIR) Shimadzu 820 IPC, spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV-2600, *Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-Ray* (SEM-EDX), *X-Ray Diffraction* (XRD) Shimadzu 7000, *magnetic stirrer*, *freeze dryer*, *rotary evaporator*, autoklaf, batang pengaduk, *hot plate*, timbangan analitik, erlenmeyer 250 mL, labu ukur 250 mL, labu ukur 1000 mL, oven, pipet volume, dan botol vial.

#### **3.3 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dari bulan Maret sampai Mei 2022 di Laboratorium Kimia Anorganik dan Laboratorium Kimia Organik Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Laboratorium Reproduksi Fakultas Peternakan, Laboratorium Pengolahan dan Pemanfaatan Hasil Hutan, Fakultas Kehutanan, Universitas Hasanuddin. Analisis sampel