

BAB I

PENDAHULUAN UMUM

1.1 Latar Belakang

Nanoteknologi merupakan salah satu inovasi terpenting dalam perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi modern (Saritha et al., 2022). Teknologi ini memungkinkan manipulasi material pada tingkat atom dan molekul, membuka peluang besar untuk menghasilkan produk dengan sifat unggul dan berkualitas tinggi (Haleem et al., 2023). Pengembangan nanoteknologi telah memicu berbagai terobosan di bidang teknologi dan kesehatan, termasuk pengembangan obat-obatan dan bahan material yang lebih efisien (Malik et al., 2023). Nanoteknologi telah membawa kemajuan besar di berbagai bidang seperti kedokteran, elektronik, energi, dan lingkungan, serta berpotensi mengatasi tantangan global melalui peningkatan efisiensi, kinerja, dan daya tahan produk dalam berbagai aplikasi industri (Bayda et al., 2020).

Konsep nanopartikel termasuk salah satu pengembangan dari konsep mikropartikel yang berkaitan dengan sintesis material (Udofa & Zhao, 2024). Metode mikropartikel memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan metode nanopartikel. Metode ini masih kurang efektif untuk dapat diterapkan dalam beberapa senyawa (Göhl et al., 2023). Ukuran mikropartikel ini masih relatif cukup besar untuk dapat dimanfaatkan lebih lanjut. Seiring dengan perkembangan teknologi konsep partikel mikro dalam sintesis suatu produk mulai digantikan dengan terobosan nanopartikel yang memiliki efisiensi yang lebih baik dalam menghasilkan suatu produk tertentu (Sindhvani et al., 2020). Salah satu jenis nanopartikel yang dapat disintesis dari bahan alam yaitu nanopartikel kalsium oksida dari batu kapur (Saleh, 2020).

Nanopartikel kalsium oksida dari batu kapur termasuk terobosan material yang semakin mendapat perhatian karena berbagai aplikasi pentingnya di bidang industri, kesehatan, dan lingkungan (Mohamed et al., 2022). Kalsium oksida secara spesifik digunakan dalam pengolahan limbah, industri kimia, dan sebagai bahan bangunan (Tabrizi Hafez Moghaddas et al., 2024). Terobosan nanopartikel menunjukkan kalsium oksida dari batu kapur dapat dijadikan sebagai bahan utama dari nanopartikel kalsium oksida dengan ukuran yang lebih kecil dan luas permukaan yang lebih besar, memiliki reaktivitas yang lebih tinggi, sehingga menjadikannya lebih efisien sebagai katalis, agen antibakteri, serta penjerap polutan (Jalu et al., 2021). Batu kapur, yang kaya akan kalsium karbonat (CaCO_3), adalah sumber yang melimpah dan ekonomis untuk produksi nanopartikel CaO (Das, 2022).

Sintesis nanopartikel kalsium oksida termasuk proses penting dalam nanoteknologi yang bertujuan untuk menghasilkan partikel berukuran nano dengan sifat fisik, kimia, dan biologi yang unik (Saleh, 2020). Proses sintesis nanopartikel kalsium oksida dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai metode fisik, kimia,

dan biologi(Altammar, 2023). Seiring berkembangnya teknologi, sintesis nanopartikel telah menjadi komponen penting untuk berbagai aplikasi, mulai dari bidang kesehatan, seperti produksi obat-obatan dan biosensor, hingga industri, energi dan lingkungan(Tabrizi Hafez Moghaddas et al., 2024). Salah satu terobosan metode terbaru dalam sintesis nanopartikel kalsium oksida yaitu kimia hijau (*green chemistry*) (Zhou et al., 2024).

Metode kimia hijau dalam sintesis nanopartikel termasuk pendekatan keberlanjutan yang bersifat ramah lingkungan dengan tujuan untuk mengurangi atau menghilangkan penggunaan bahan kimia berbahaya dan limbah beracun (Meshkatsadat & Solaimani, 2023). Prinsip kimia hijau diterapkan dalam sintesis nanopartikel untuk meminimalkan dampak negatif terhadap lingkungan dan kesehatan manusia. Hal ini memerlukan penggunaan pelarut dan bahan yang lebih aman seperti senyawa alami serta kondisi reaksi pada suhu dan tekanan yang lebih rendah (Chu et al., 2022). Pendekatan yang umum dilakukan seperti penggunaan bahan pereduksi alami dari tumbuhan, seperti ekstrak daun dari tumbuh-tumbuhan. Penggunaan metode ini menghasilkan nanopartikel kalsium oksida yang dihasilkan ramah lingkungan dan memiliki potensi penerapan yang lebih luas, terutama di bidang biomedis dan teknologi hijau lainnya (Khan et al., 2023). Salah satu jenis tumbuhan yang berpotensi sebagai bioreduktor nanopartikel kalsium oksida yaitu tumbuhan bitti (*Vitex cofassus*).

Tumbuhan bitti dikenal sebagai salah satu spesies lokal yang berpotensi digunakan sebagai bioreduktor alami dalam biosintesis nanopartikel kalsium oksida (Budiaman et al., 2023). Ekstrak daun bitti mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti flavonoid, fenol, dan tanin, yang dapat berperan sebagai agen pereduksi dan penstabil dalam proses sintesis nanopartikel. Senyawa-senyawa ini membantu mengubah kalsium karbonat dari batu kapur menjadi nanopartikel CaO secara lebih efisien dan ramah lingkungan (Muslimin et al., 2020). Penggunaan tumbuhan bitti sebagai bioreduktor tidak hanya mendukung metode sintesis kimia hijau, tetapi juga memanfaatkan sumber daya alam yang melimpah dan terbarukan di wilayah lokal (Yumna et al., 2023). Hal ini menjadikan tumbuhan bitti sebagai solusi potensial untuk menghasilkan nanopartikel berkualitas tinggi dengan pendekatan yang lebih berkelanjutan dan berwawasan lingkungan (Chu et al., 2022).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. bagaimana kondisi optimum konsentrasi nanopartikel kalsium oksida (CaO) dari batu kapur menggunakan bioreduktor ekstrak daun bitti (*Vitex cofassus*) ?,
2. bagaimana karakteristik nanopartikel kalsium oksida (CaO) dari batu kapur menggunakan bioreduktor ekstrak daun bitti (*Vitex cofassus*) ?,
3. bagaimana aktivitas antibakteri nanopartikel kalsium oksida (CaO) dari batu kapur menggunakan bioreduktor ekstrak daun bitti (*Vitex cofassus*) ?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. menentukan kondisi optimum konsentrasi nanopartikel kalsium oksida (CaO) dari batu kapur menggunakan bioreduktor ekstrak daun bitti (*Vitex cofassus*),
2. menganalisis karakteristik nanopartikel kalsium oksida (CaO) dari batu kapur menggunakan bioreduktor ekstrak daun bitti (*Vitex cofassus*),
3. menentukan uji aktivitas antibakteri nanopartikel kalsium oksida (CaO) dari batu kapur menggunakan bioreduktor ekstrak daun bitti (*Vitex cofassus*).

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. memberikan informasi mengenai potensi ekstrak daun bitti (*Vitex cofassus*) sebagai bioreduktor dari nanopartikel kalsium oksida (CaO),
2. memberikan informasi mengenai kondisi optimum konsentrasi nanopartikel kalsium oksida (CaO) dari batu kapur menggunakan bioreduktor ekstrak daun bitti (*Vitex cofassus*),
3. memberikan alternatif produksi nanopartikel kalsium oksida (CaO) yang ramah lingkungan dengan konsep *green chemistry* karena mampu meminimalisir penggunaan bahan-bahan kimia yang berbahaya sekaligus limbahnya, dan
4. memberikan alternatif pengaplikasian nanopartikel kalsium oksida (CaO) berbasis *green chemistry* sebagai antimikroba dalam pembuatan produk antimikroba.

1.5 Perbandingan Teori

Perbandingan teori pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan teori penelitian

Penulis	Judul Penelitian	Tahun	Metode	Hasil
Ahmad et al.	<i>Green Synthesis of CaO Nanoparticles Using Plant Extract and Antibacterial Evaluation</i>	2019	Menggunakan ekstrak daun <i>Vitex cofassus</i> sebagai agen bioreduktor untuk sintesis nanopartikel CaO dari batu kapur. Reaksi dilakukan pada suhu rendah dan nanopartikel dikarakterisasi dengan XRD dan SEM	Nanopartikel CaO berukuran 20-40 nm dihasilkan, menunjukkan aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .
Rahman et al.	<i>Biosynthesis of CaO Nanoparticles from Limestone</i>	2020	Ekstrak daun <i>Vitex cofassus</i> digunakan sebagai bioreduktor alami dalam sintesis	Nanopartikel dengan ukuran rata-rata 30 nm berhasil disintesis dan menunjukkan

	<i>with Vitex cofassus Leaf Extract and Antimicrobial Activity</i>		nanopartikel CaO. Metode ini melibatkan kalsinasi batu kapur pada suhu 500°C dan karakterisasi dengan FTIR dan TEM.	aktivitas antibakteri yang kuat terhadap bakteri Gram-positif dan Gram-negatif, terutama <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
Kumar et al.	<i>Green Synthesis of Calcium Oxide Nanoparticles from Limestone and Their Application in Antibacterial Studies</i>	2020	Sintesis nanopartikel CaO menggunakan ekstrak daun <i>Vitex cofassus</i> sebagai agen pereduksi. Pengujian karakterisasi menggunakan UV-Vis, SEM, dan XRD, diikuti dengan uji aktivitas antibakteri melalui metode difusi agar.	Nanopartikel berukuran antara 25-50 nm menunjukkan hasil antibakteri signifikan terhadap berbagai bakteri, termasuk Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA).
Hassan et al.	<i>Synthesis of CaO Nanoparticles from Limestone Using Vitex Leaf Extract for Antibacterial and Antifungal Applications</i>	2021	Menggunakan metode biosintesis hijau dengan ekstrak daun <i>Vitex cofassus</i> untuk sintesis CaO. Nanopartikel dikarakterisasi dengan TEM, SEM, dan XRD, serta diuji aktivitasnya terhadap bakteri dan jamur patogen.	Nanopartikel CaO menunjukkan aktivitas antimikroba yang tinggi, terutama terhadap bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> dan fungi <i>Candida albicans</i> , dengan ukuran partikel sekitar 35 nm.
Putra et al.	<i>Biogenic Synthesis of Calcium Oxide Nanoparticles Using Vitex cofassus Extract: Antibacterial Properties and Characterization</i>	2022	Ekstrak daun <i>Vitex cofassus</i> digunakan sebagai bioreduktor dalam sintesis nanopartikel CaO dari batu kapur. Pengujian karakterisasi dilakukan dengan XRD, SEM, dan FTIR, serta aktivitas antibakteri diuji melalui metode difusi cakram.	Nanopartikel CaO berukuran 20-45 nm dihasilkan dengan aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap <i>E. coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> . Potensi aplikasinya dalam pengembangan bahan antibakteri ramah lingkungan ditekankan.

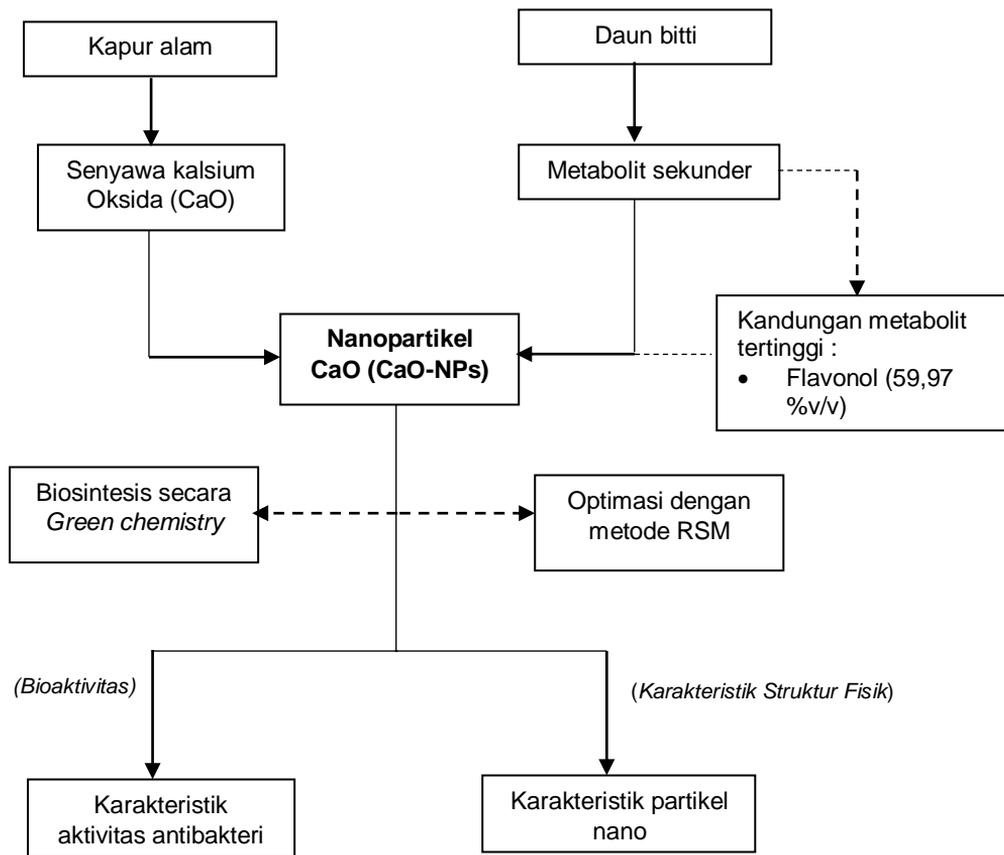
1.6 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Nanopartikel kalsium oksida (CaO) dari batu kapur dapat disintesis dengan kondisi optimum tertentu dengan metode biosintesis nanopartikel dari ekstrak daun bitti (*Vitex cofassus*) sebagai bioreduktor.
2. Nanopartikel kalsium oksida (CaO) dari batu kapur menggunakan ekstrak daun bitti (*Vitex cofassus*) sebagai bioreduktor memiliki karakteristik ukuran partikel nano (1 – 100 nm).
3. Nanopartikel kalsium oksida dari batu kapur menggunakan ekstrak daun bitti (*Vitex cofassus*) dapat digunakan sebagai agen antibakteri.

1.7 Kerangka Berpikir

Sumber daya alam lokal belum tereksplorasi secara mendalam menjadi salah satu faktor kurang berkembangnya kemajuan teknologi. Salah satu sumber daya alam lokal yang masih kurang di eksplorasi untuk perkembangan teknologi yaitu kapur alam dan tumbuhan bitti. Batu kapur dapat menghasilkan senyawa kalsium oksida melalui proses kalsinasi pada suhu yang tinggi, sedangkan tumbuhan bitti termasuk sumber daya alam lokal Indonesia Timur memiliki metabolit sekunder yang cukup melimpah, salah satunya yaitu kandungan flavonoid yang mencapai 59,97%. Kapur alam dan daun bitti dapat dikombinasikan untuk menghasilkan produk terbaru yaitu nanopartikel kalsium oksida melalui biosintesis secara kimia hijau/*green chemistry*. Inovasi nanopartikel sedang marak dikembangkan untuk keperluan berbagai industri dan teknologi. Nanopartikel kalsium oksida hasil biosintesis dapat ditentukan optimasinya menggunakan metode RSM (*Response Surface Methodology*). Kombinasi nanopartikel hasil optimasi dapat dikarakterisasi struktur fisiknya menggunakan analisis instrumen seperti XRD dan SEM. Nanopartikel hasil biosintesis memiliki keunggulan untuk diaplikasikan dalam berbagai bidang, salah satunya sebagai agen antibakteri untuk mengatasi berbagai permasalahan dalam dunia medis dan kesehatan modern seperti resistensi antibiotik. Bagan Kerangka berpikir pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1.1.



Gambar 1.1. Bagan kerangka berpikir penelitian

BAB II

TOPIK PENELITIAN I: BIOSINTESIS NANOPARTIKEL KALSIMUM OKSIDA (CaO) DARI BATU KAPUR MENGGUNAKAN BIOREDUKTOR EKSTRAK DAUN BITTI (*Vitex Cofassus*)

ABSTRAK

SAHRUL. **Biosintesis Nanopartikel Kalsium Oksida (CaO) dari Batu Kapur Menggunakan Bioreduktor Ekstrak Daun Bitti (*Vitex Cofassus*)** (dibimbing oleh Abdul Karim dan Nur Umriani Permatasari)

Nanoteknologi merupakan salah satu terobosan terbaru yang memiliki peranan penting dalam pengembangan teknologi, energi, industri, dan berbagai bidang lainnya. Perkembangan ini tidak hanya membawa inovasi dalam sintesis material, tetapi juga menawarkan solusi yang lebih ramah lingkungan melalui penerapan prinsip kimia hijau. Salah satu contoh penerapan prinsip tersebut adalah sintesis nanopartikel oksida, yang kini mendapat perhatian signifikan di kalangan peneliti. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis karakteristik nanopartikel kalsium oksida (CaO) yang diperoleh dari batu kapur dengan menggunakan bioreduktor berupa ekstrak daun bitti (*Vitex Cofassus*). Metode yang diterapkan dalam penelitian ini adalah kimia hijau, yaitu pemanfaatan ekstrak daun bitti sebagai agen pengurang yang memfasilitasi reaksi sintesis tanpa melibatkan bahan kimia berbahaya. Proses sintesis dilakukan dengan cermat agar menghasilkan partikel dengan ukuran dan bentuk yang seragam. Hasil sintesis nanopartikel kemudian dikarakterisasi menggunakan instrumen X-Ray Diffraction (XRD) dan Scanning Electron Microscopy (SEM). Analisis XRD mengungkapkan bahwa nanopartikel kalsium oksida memiliki ukuran partikel rata-rata sebesar 13,5 nm dengan struktur kristal berbentuk kubus berpusat muka atau FCC (Face Centered Cubic). Selanjutnya, pengamatan menggunakan SEM pada perbesaran 3000x dengan akselerasi tegangan 15 kV menunjukkan bahwa morfologi partikel berbentuk bulat atau sferis. Keberhasilan sintesis ini menunjukkan potensi besar penggunaan metode kimia hijau dalam produksi nanopartikel yang ramah lingkungan, dan hasilnya diharapkan dapat membuka peluang pengembangan aplikasi di bidang teknologi, material, serta energi terbarukan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat membuka peluang lebih luas dalam pengembangan material nano untuk berbagai inovasi industri masa depan serta memberikan dasar bagi penelitian lanjutan dalam pemanfaatan sumber daya alam yang efisien dan berkelanjutan.

Kata kunci: biosintesis; nanopartikel kalsium oksida; batu kapur; ekstrak daun bitti; bioreduktor

ABSTRACT

SAHRUL. **Biosynthesis of Calcium Oxide (CaO) Nanoparticles from Limestone Using Bioreductor Bitti Leaf Extract (*Vitex Cofassus*)** (supervised by Abdul Karim and Nur Umriani Permatasari)

Nanotechnology represents one of the latest breakthroughs in the fields of technology, energy, and industry, offering innovative solutions that promote sustainable development. This study focuses on the synthesis and characterization of calcium oxide (CaO) nanoparticles derived from limestone using a bioreductor obtained from the leaf extract of *Vitex Cofassus*. Employing a green chemistry approach, the method utilizes the natural reducing properties of the *Vitex Cofassus* extract to facilitate the synthesis process without resorting to hazardous chemicals. The resulting CaO nanoparticles were thoroughly analyzed using X-Ray Diffraction (XRD) and Scanning Electron Microscopy (SEM) to determine their structural and morphological characteristics. XRD analysis revealed that the nanoparticles possess an average particle size of 13.5 nanometers and exhibit a face-centered cubic (FCC) crystalline structure, indicating a well-organized atomic arrangement. Furthermore, SEM observations at 3000 \times magnification with an acceleration voltage of 15 kV confirmed that the particles have a spherical morphology, which is desirable for various applications. The successful implementation of this eco-friendly synthesis method demonstrates the significant potential of green chemistry in producing high-quality nanoparticles while minimizing environmental impact. The findings of this research not only contribute to the growing body of knowledge in nanotechnology but also pave the way for future studies aimed at developing sustainable materials for industrial, technological, and energy-related applications. This innovative research approach significantly emphasizes the practical applications of green synthesis and contributes to reducing chemical waste. As industries increasingly pursue sustainable practices, the potential for further advancements in nanoparticle technology continues to expand, ultimately promoting eco-friendly innovations.

Keyword: biosynthesis; calcium oxide nanoparticles; limestone; bitti leaf extract; bioreductor

2.1 Pendahuluan

Nanoteknologi merupakan salah satu bidang penelitian yang berkembang pesat (Alobaidi et al., 2022), terutama dalam produksi nanopartikel untuk berbagai aplikasi di bidang kesehatan, lingkungan, dan industri (Malik et al., 2023). Salah satu nanopartikel yang memiliki potensi besar dalam aplikasi antibakteri adalah nanopartikel kalsium oksida (CaO) (Bayda et al., 2020). Nanopartikel CaO memiliki sifat unik dan karakteristik material yang menjadikannya berpotensi untuk dikembangkan dalam berbagai keperluan (Mohamed et al., 2022). Nanopartikel CaO dapat disintesis dari berbagai jenis material (Tabrizi Hafez Moghaddas et al., 2024), dan salah satu material yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan sebagai sumber nanopartikel CaO adalah batu kapur (Mazher et al., 2023).

Batu kapur telah menarik perhatian besar dalam penelitian material karena potensinya yang besar dalam berbagai aplikasi industri dan lingkungan (Jalu et al., 2021). Batu kapur secara alami kaya akan kalsium karbonat (CaCO_3), sehingga dapat diolah menjadi nanopartikel kalsium oksida (CaO) yang berukuran kecil (Vivi Sisca & Zilfa, 2020). Nanopartikel kalsium oksida dari batu kapur mampu menghasilkan material dengan luas permukaan yang lebih besar dan sifat fisik yang unik (Chero et al., 2023). Penggunaan nanopartikel ini mencakup berbagai bidang seperti pemurnian air, pencegahan polusi, penguatan material komposit, dan aplikasi lainnya (Pujiastuti et al., 2023). Selain itu, batu kapur merupakan sumber daya alam yang melimpah dan relatif murah, menjadikannya alternatif berkelanjutan dalam perkembangan industri (Lai et al., 2020).

Nanopartikel kalsium oksida dapat disintesis dengan beberapa metode seperti metode fisika (*Top-Down*) dan metode kimia (*Bottom-Up*) (Wang et al., 2024). Namun, metode ini jika diterapkan secara keseluruhan dalam sintesis nanopartikel memiliki kekurangan dalam prosesnya, seperti biaya operasional yang mahal dan dampak lingkungan yang kurang ramah (Alobaidi et al., 2022). Oleh karena itu, dikembangkanlah salah satu terobosan terbaru, yaitu metode sintesis nanopartikel berbasis kimia hijau yang dikombinasikan dengan metode fisika dan kimia untuk menanggulangi permasalahan tersebut (Lin et al., 2022).

Pendekatan biosintesis kimia hijau telah dikembangkan sebagai agen bioreduktor alami dari ekstrak tumbuh-tumbuhan yang dapat digunakan dalam proses sintesis nanopartikel (Ning et al., 2020). Pendekatan ini tidak hanya lebih aman tetapi juga bersifat berkelanjutan (Mazher et al., 2023). Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai agen bioreduktor adalah daun bitti, yang dikenal di Indonesia dengan nama bitti (Tabrizi Hafez Moghaddas et al., 2024). Ekstrak daun bitti mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, dan fenolik yang dapat mereduksi ion-ion kalsium menjadi nanopartikel kalsium oksida (Bayda et al., 2020). Proses ini memberikan alternatif yang ramah lingkungan dibandingkan dengan metode sintesis kimia konvensional yang menggunakan pelarut-pelarut kimia (Meshkatalasadat & Solaimani, 2023).

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan karakterisasi nanopartikel kalsium oksida menggunakan bioreduktor ekstrak daun bitti melalui beberapa metode, yaitu karakteristik struktur (XRD dan SEM).

2.2 Metode

2.2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Maret 2024 sampai September 2024 di Laboratorium Biokimia Departemen Kimia Fakultas MIPA Universitas Hanasuddin. Preparasi sampel dilaksanakan di Laboratorium Anorganik, Organik, dan Instrumen Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. Analisis sampel XRD dilaksanakan di Laboratorium Teknik Geologi Universitas Hasanuddin, Makassar, dan analisis SEM dilakukan di Laboratorium Kimia Terpadu, Fakultas Teknik, Universitas Muslim Indonesia.

2.2.2 Alat dan Bahan

Alat. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah SEM *Hitachi Model TM4000 Plus II*, XRD-*Shimadzu-XRF-7000L*, Spektrofotometer UV-Vis 2600 series, neraca analitik merk OHAUS, Erlenmeyer 100 mL, gelas kimia 250 mL & 500 mL, gelas ukur 25 mL, tabung reaksi, pipet volume 50 mL, pipet tetes 2 mL, cawan petri, cawan porselin, batang pengaduk, corong, oven merk *memmert*, *hotplate* magnetic stirrer, *hotplate*, sentrifuge, *Jaw crusher Merk DAIHO*, *sieve shaker* merk AS200 control, tanur merk B—ONE *ceramic*, mortal, alu, palu, botol semprot, bulb, botol sampel, *blender*, dan pisau.

Bahan. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah akuabides W4L, akuades merk *waterone*, aluminium klorida (AlCl_3) 10% merk *xerac AC*, asam klorida (HCl) pekat merk *supelco*, asam trikloroasetat (CCl_3COOH) 10% merk *supelco*, buffer fosfat 0,2 M merk *Milipore*, etanol p.a ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) merk 100971, daun bitti, kalium asetat (CH_3COOK) merk Kanto *chemical*, kertas saring *whatman* no.42 merk *cytiva*, larutan besi(III)klorida 1% merk EMSURE, pereaksi *dragendorff*, pereaksi *mayer*, pereaksi *wagner*, serbuk batu kapur, serbuk magnesium 2 N merk *e-katalog 1.05815.1000*, serbuk kuarsetin, sodium trifosfat/STTP ($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$) 1% merk *Phosmix*, dan tissue.

2.2.3 Prosedur Kerja

Preparasi Kalsium Oksida. Penelitian ini diawali dengan preparasi sampel sebanyak 3 kg yang diperoleh dari sisa-sisa hasil penambangan batu kapur di Desa Baruga, Kecamatan Bantimurung, Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan (Pujiastuti et al., 2023). Batu kapur dibersihkan menggunakan aquadest hingga bersih dan tidak ada kotoran yang menempel. Selanjutnya, batu kapur dihancurkan menggunakan mortar hingga ukurannya menjadi kecil. Sampel batu kapur kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari sampai benar-benar kering. Batu kapur yang telah kering dihancurkan menggunakan alat penghancur material batuan (*jaw crusher*) hingga berbentuk serbuk. Serbuk batu kapur kemudian disaring menggunakan ayakan 230 mesh (Nayebzadeh et al., 2024). Serbuk batu kapur yang telah didapatkan kemudian dikalsinasi pada suhu 1000°C selama 6 jam, lalu dianalisis menggunakan XRD untuk mengidentifikasi kristalinitas kalsium oksida pada sampel (Chen et al., 2024).

Ekstraksi Daun Bitti. Daun bitti diambil dari kawasan hutan Desa Gattareng, Kecamatan Salomekko, Kabupaten Bone, Sulawesi Selatan (Zaini et al., 2022). Daun bitti yang telah diambil dicuci menggunakan air untuk menghilangkan sisa kotoran yang menempel. Daun yang telah bersih kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar selama 3 – 5 hari. Daun yang telah kering dihaluskan menggunakan blender dan disimpan dalam wadah bersih dan tertutup rapat (Leal et al., 2023).

Uji Fitokimia kandungan Flavonid secara Kualitatif Ekstrak Daun Bitti. Identifikasi kandungan senyawa flavonoid dalam ekstrak daun bitti (*Vitex cofassus*)

dilakukan dengan menimbang 10 mg ekstrak daun menggunakan neraca analitik, kemudian melarutkannya dalam 10 mL akuades hingga homogen dan memanaskan campuran tersebut menggunakan hotplate pada suhu rendah hingga sedang selama beberapa menit untuk membantu pelarutan; setelah larutan cukup dingin, tambahkan 1–2 spatula serbuk magnesium (Mg) dan 1 mL asam klorida (HCl) pekat secara perlahan sambil diaduk hingga homogen, lalu kocok campuran secara perlahan dan amati perubahan warna yang terjadi, dimana uji positif untuk kandungan flavonoid ditandai dengan munculnya warna merah, jingga, atau ungu (Melpiany et al., 2020).

Pembuatan Larutan Standar Kuarsetin. Sebanyak 6,2 mg serbuk kuarsetin ditimbang menggunakan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam labu ukur berkapasitas 25 mL. Serbuk tersebut kemudian dilarutkan dengan menambahkan etanol p.a. hingga mencapai tanda batas labu ukur. Larutan dihomogenkan dengan cara mengocok atau menggunakan alat pengaduk magnetik untuk memastikan seluruh serbuk terlarut sempurna, sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 250 mg/L. Selanjutnya, larutan standar kuarsetin dibuat dengan mengencerkan larutan stok menjadi deret konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L menggunakan etanol p.a. sebagai pelarut (Sheen et al., 2022).

Pembuatan Kurva Standar Kuarsetin. Setiap larutan standar yang telah dibuat diambil sebanyak 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian, ditambahkan 1,5 mL etanol p.a, 0,1 mL aluminium klorida (AlCl_3) 10%, 0,1 mL kalium asetat (CH_3COOK) 1 M, dan 2,8 mL akuades. Larutan tersebut dikocok dan didiamkan selama 30 menit. Setelah itu, diukur panjang gelombang maksimum pada 435 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui nilai absorbansi maksimal pada sampel (Revenga-Parra et al., 2020). Data larutan standar digunakan untuk membuat persamaan regresi dalam penentuan kesetaraan kuarsetin sebagai kadar total flavonoid yang dituliskan pada persamaan (1)

$$y = ax + b \quad (1)$$

Keterangan :

y = absorbansi

a = *slope*

b = *intercept*

x = kadar flavonoid (mg/mL)

Penentuan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Daun Bitti. Penentuan kadar total flavonoid dalam sampel ekstrak daun bitti dilakukan dengan menggunakan kurva standar kuarsetin. Pertama, larutan stok kuarsetin 1000 ppm dibuat dengan melarutkan 10 mg kuarsetin dalam 10 mL etanol p.a. Selanjutnya, larutan stok diencerkan untuk membuat seri konsentrasi standar, misalnya 0, 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm. Setiap larutan standar kemudian ditambahkan reagen yang terdiri dari 1,5 mL etanol p.a, 0,1 mL larutan aluminium klorida (AlCl_3) 10%, 0,1 mL larutan kalium asetat (CH_3COOK) 1 M, dan 2,8 mL air suling (akuades). Larutan dikocok hingga

homogen dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Absorbansi larutan standar diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 435 nm (Septiani et al., 2021). Data absorbansi dan konsentrasi standar kemudian diplot untuk membuat kurva standar, yang menghasilkan persamaan garis regresi linear $y=ax+b$, di mana y adalah absorbansi, x adalah konsentrasi kuersetin (ppm), m adalah slope (kemiringan garis), dan c adalah intercept (titik potong sumbu y). Kadar total flavonoid dapat dihitung dengan persamaan (2)

$$F = \frac{C \times V}{m} \quad (2)$$

Keterangan:

F = Kadar flavonoid (mg/g ekstrak)

C = Konsentrasi flavonoid dalam sampel (mg/L)

V = Volume larutan (L)

m = Berat sampel (g)

Biosintesis Nanopartikel CaO. Sebanyak 5% serbuk kalsium oksida yang telah disiapkan dicampurkan dengan ekstrak daun bititi dengan konsentrasi 5% (Ahmad et al., 2022). Campuran tersebut kemudian dihomogenkan dengan menambahkan 20 mL akuades, sambil dipanaskan pada *hotplate magnetic stirrer* dengan suhu 60°C. Setelah tercampur rata, campuran disentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm selama 2 jam. Filtrat dan endapan yang terbentuk kemudian dipisahkan, dan endapan yang diperoleh dikeringkan dalam oven pada suhu 70°C selama 30 menit. Endapan hasil proses ini siap untuk dikarakterisasi lebih lanjut (Mbenga et al., 2023).

Uji Daya Reduksi Flavonoid pada Nanopartikel CaO. Sebanyak 0,5 mL larutan nanopartikel CaO 1% diambil, kemudian ditambahkan dengan 2,5 mL buffer fosfat (0,2 M, pH 6,6) dan 2,5 mL larutan sodium trifosfat 1%. Campuran ini diinkubasi pada suhu 50°C selama 30 menit, lalu ditambahkan 2,5 mL asam trikloroasetat 10%. Setelah itu, campuran disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan diambil sebanyak 2,5 mL, kemudian dicampurkan dengan 2,5 mL akuades dan 0,5 mL larutan besi(III) klorida. Panjang gelombang maksimum diukur dalam rentang 435 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Sharma et al., 2023). Data absorbansi maksimum yang diperoleh digunakan untuk menghitung konsentrasi flavonoid yang mereduksi nanopartikel CaO sesuai dengan persamaan regresi linear berikut: (Maringgal et al., 2020).

$$y = ax + b \quad (3)$$

Keterangan:

y = absorbansi

a = *slope*

b = *intercept*

x = konsentrasi flavonoid sisa (%)

Perhitungan Efisiensi Reduksi Nanopartikel CaO. Perhitungan efisiensi reduksi flavonoid pada nanopartikel CaO dilakukan dengan cara membandingkan total senyawa aktif (flavonoid) dikurangi konsentrasi flavonoid sisa (Mbenga et al., 2023). Secara matematis nilai efisiensi dapat dituliskan pada persamaan (4).

$$\text{Efisiensi (\%)} = \frac{\text{Total Flavonoid} - \text{Flavonoid sisa}}{\text{Total Flavonoid}} \times 100\% \quad (4)$$

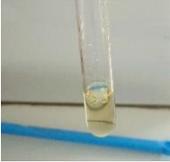
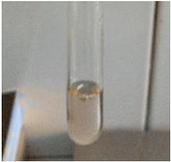
Karakterisasi Biosintesis Nanopartikel CaO. Serbuk yang diperoleh dari hasil biosintesis dikarakterisasi menggunakan XRD untuk mengetahui distribusi fasa serta ukuran dari CaO-NPs dan karakterisasi menggunakan SEM untuk mengetahui karakteristik morfologi dari CaO-NPs (Mohamed et al., 2022).

2.3 Hasil

2.3.1 Hasil Uji Fitokimia Kandungan Flavonoid secara Kualitatif Ekstrak Daun Bitti

Hasil pengujian fitokimia kandungan flavonoid secara kualitatif dari ekstrak daun bitti dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Hasil uji fitokimia kandungan flavonoid ekstrak daun bitti

Sampel	Senyawa bioaktif	Metode pengujian	Hasil uji positif	Perubahan warna	
				Sebelum	Sesudah
Ekstrak daun bitti (<i>Vitex cofassus</i>)	Flavonoid	HCl pekat dan serbuk Mg	Merah bata (+)		

Tabel 2.1 menunjukkan hasil pengujian fitokimia terhadap kandungan flavonoid secara kualitatif pada ekstrak daun bitti. Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode pereaksi HCl pekat dan serbuk magnesium (Mg), yang menghasilkan perubahan warna dari kuning menjadi merah bata, yang menandakan adanya flavonoid dalam ekstrak tersebut. Perubahan warna ini menunjukkan hasil uji positif (+), yang menegaskan bahwa daun bitti mengandung flavonoid sebagai salah satu metabolit sekunder. Hasil ini konsisten dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Melpiany et al. (2020), yang juga melaporkan hasil uji fitokimia positif flavonoid pada tanaman lain menggunakan metode yang sama, yaitu perubahan warna merah bata setelah ditambah HCl pekat dan serbuk Mg.

Selain itu, penelitian oleh Ahmad et al. (2021) juga menunjukkan hasil serupa pada ekstrak daun dari tanaman yang berbeda, di mana flavonoid terdeteksi dengan perubahan warna merah bata menggunakan metode yang sama. Perbandingan ini mengindikasikan bahwa metode uji fitokimia menggunakan HCl pekat dan serbuk Mg dapat diterapkan secara luas untuk mendeteksi flavonoid

dalam berbagai jenis tanaman. Hasil yang diperoleh pada ekstrak daun bitti memberikan bukti kuat bahwa tanaman ini mengandung flavonoid, yang dapat berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber senyawa bioaktif dengan berbagai manfaat kesehatan.

Nilai Absorbansi Standar Kuarsetin. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar kuarsetin dengan panjang gelombang 435 nm dapat dilihat pada tabel 2.2.

Tabel 2.2. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar kuarsetin ($\lambda = 435 \text{ nm}$)

Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi
20	0.1273
40	0.2451
60	0.3081
80	0.4741
100	0.5568

Tabel 2.2 menunjukkan hasil pengukuran absorbansi larutan standar kuarsetin pada panjang gelombang 435 nm. Pada konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L, larutan standar kuarsetin menunjukkan absorbansi berturut-turut sebesar 0,1273, 0,2451, 0,3081, 0,4741, dan 0,5568. Pengukuran ini memberikan deret standar yang digunakan untuk menghitung kadar flavonoid dalam sampel berdasarkan prinsip hubungan linear antara konsentrasi dan absorbansi pada panjang gelombang tertentu.

Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini sesuai dengan hasil yang dilaporkan oleh Leal et al. (2023), yang juga menggunakan panjang gelombang 435 nm untuk mengukur larutan standar kuarsetin dengan konsentrasi serupa, dan menghasilkan pola absorbansi yang hampir sama. Dalam penelitian tersebut, pengukuran absorbansi menunjukkan peningkatan linier seiring dengan peningkatan konsentrasi, yang mengindikasikan bahwa metode ini dapat digunakan untuk analisis kuantitatif flavonoid. Perbandingan ini memperkuat keakuratan dan konsistensi penggunaan panjang gelombang 435 nm sebagai parameter dalam analisis flavonoid, khususnya kuarsetin, dalam larutan standar.

2.3.2 Hasil Penentuan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Daun Bitti

Hasil penentuan kadar total flavonoid ekstrak daun bitti dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3. Kadar total flavonoid ekstrak daun bitti

Sampel	Absorbansi	Konsentrasi Flavonoid (mg/L)	Konversi Nilai Konsentrasi (Mg/g)
Ekstrak daun bitti	0,4956	88,83	44

Tabel 2.3 menunjukkan hasil penentuan kadar total flavonoid pada ekstrak daun bitti. Berdasarkan pengukuran absorbansi ekstrak daun bitti yang mencapai 0,4956,

serta konsentrasi kuersetin yang dihitung sebesar 88,83 mg/L, kadar flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak tersebut adalah 44 mg/g ekstrak atau setara dengan 4,4% (dalam 100 gram ekstrak). Penentuan ini dilakukan menggunakan persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva baku, yang menunjukkan hubungan linier antara konsentrasi kuersetin dan absorbansi pada panjang gelombang 435 nm.

Hasil ini sejalan dengan temuan yang dilaporkan oleh Fatmawati et al. (2022), yang juga mengukur kadar flavonoid pada ekstrak tanaman lain dengan menggunakan metode spektrofotometri dan memperoleh hasil serupa dalam hal kandungan flavonoid yang cukup tinggi. Dalam penelitian tersebut, pengukuran kadar flavonoid pada ekstrak tanaman dengan konsentrasi flavonoid total mencapai sekitar 4-5%, yang konsisten dengan temuan pada ekstrak daun bitti. Hal ini menandakan bahwa kandungan flavonoid pada ekstrak bitti memiliki kisaran kadar yang cukup tinggi.

2.3.3 Nilai Daya dan Efisiensi Reduksi Oleh Flavonoid

Hasil perhitungan daya dan efisiensi reduksi flavonoid dalam nanopartikel kalsium oksida dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4. Daya dan efisiensi reduksi nanopartikel CaO

Sampel	Konsentrasi Total Flavonoid	Konsentrasi Flavonoid sisa (mg/L)	Daya Reduksi (%)	Efisiensi (%)
Nanopartikel CaO	88,83	48,27	54,5	45,5

Tabel 2.4 menunjukkan hasil perhitungan daya dan efisiensi reduksi flavonoid pada nanopartikel CaO pada panjang gelombang 435 nm. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa flavonoid sisa yang mereduksi nanopartikel CaO memiliki nilai konsentrasi flavonoid total sebesar 88,83. Konsentrasi flavonoid sisa sebesar 48,27 mg/L dengan daya reduksi sebesar 54,5% serta efisiensi reduksi pada nanopartikel CaO sebesar 45,5% (dalam 100 mL campuran).

2.3.4 Karakteristik Kalsium Oksida dari Serbuk Batu Kapur menggunakan XRD

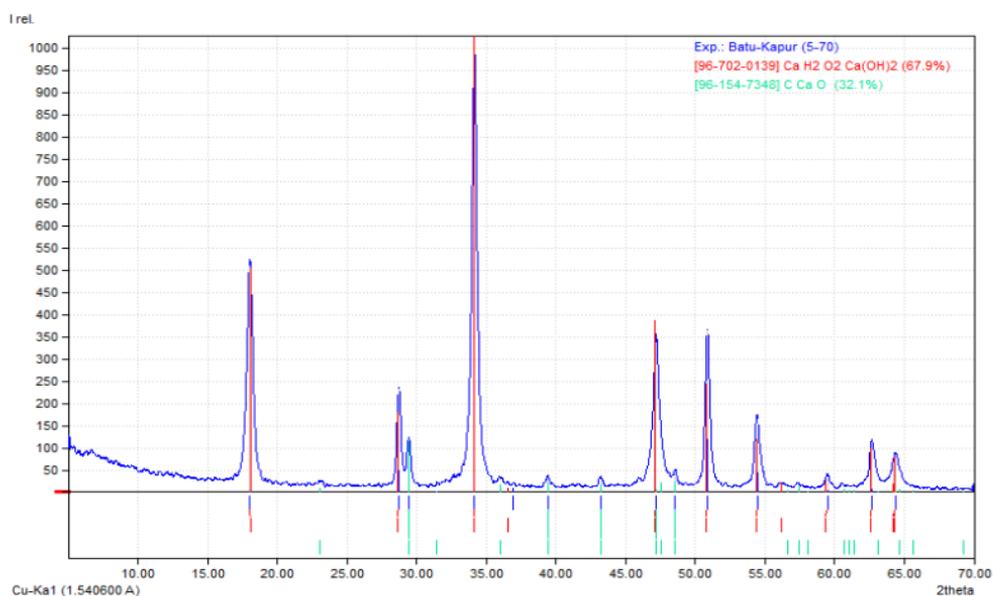
Nilai Puncak Difraksi Kalsium Oksida. Adapun nilai puncak (I/I_0) dari intensitas daerah 2θ yang dominan pada kalsium oksida (CaO) masing-masing dapat dilihat pada Tabel 2.5.

Tabel 2.5. Nilai puncak difraksi (I/I_0) dari intensitas daerah 2θ batu kapur (kalsium oksida)

Nilai Puncak Difraksi			
2θ [°]	d [Å]	I/I_0	FWHM
29,44	3,0315	109,20	0,3802
39,41	2,2845	24,38	0,4197

43,18	2,0933	24,04	0,3066
47,19	1,9243	336,36	0,5280
48,55	1,8738	33,36	0,6714

Tabel 2.5 menunjukkan nilai puncak difraksi kalsium oksida yang dominan dengan intensitas tertinggi sebesar 336,36 pada daerah 2θ 47,19. Nilai intensitas tertinggi menandakan komposisi fase kalsium oksida yang semakin dominan, yang diikuti kemunculan kalsium oksida pada daerah 2θ yang lain pada 29,44; 39,41; 43,18; dan 48,55 dengan nilai intensitas yang berbeda-beda. Adapun grafik puncak difraksi dari kalsium oksida dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.1. Pola difraksi kalsium oksida batu kapur hasil kalsinasi

Nilai Interpretasi Bidang Kisi dan Bentuk Kristal Kalsium Oksida. Nilai interpretasi bidang kisi dan bentuk kristal dari kalsium oksida (fase B) dapat dilihat pada Tabel 2.6.

Tabel 2.6. Interpretasi bidang kisi dan kristal kalsium oksida

Parameter senyawa CaO (Fase CaO)					
Nilai 2θ (°)	Nilai θ (°)	$d[\text{Å}]$	Indeks Miller (h,k,l)	Nilai Bidang Kisi	Bentuk Kristal
47,19	23,59	1,923	6	220	Face Centered Cubic (FCC)/Kubus berpusat muka
29,44	14,72	3,034	2	200	Face Centered Cubic (FCC)/Kubus berpusat muka

39,41	19,705	2,284	4	220	<i>Face Centered Cubic (FCC)/Kubus berpusat muka</i>
43,18	21,59	2,093	6	311	<i>Face Centered Cubic (FCC)/Kubus berpusat muka</i>
48,55	24,275	1,876	8	400	<i>Face Centered Cubic (FCC)/Kubus berpusat muka</i>
(Referensi: JCPDS/ICDD (<i>Joint Committee on Powder Diffraction Standards/International Centre for Diffraction Data</i>))					

Tabel 2.6 menunjukkan nilai interpretasi bidang kisi dan bentuk kristal dari kalsium oksida (CaO) pada fase puncak difraksi CaO dominan, yang terdiri dari beberapa bidang kisi dengan indeks Miller (h,k,l) yang berbeda-beda. Bidang kisi yang teridentifikasi pada kalsium oksida fase tersebut, yang teramati pada nilai 2θ seperti $29,44^\circ$ (bidang 200), $39,41^\circ$ (bidang 220), $43,18^\circ$ (bidang 311), dan $48,55^\circ$ (bidang 400), semuanya menunjukkan struktur *Face Centered Cubic* atau kubus berpusat muka. Nilai jarak kisi (d) pada masing-masing bidang kisi tersebut, antara lain $3,034 \text{ \AA}$ untuk bidang 200, $2,284 \text{ \AA}$ untuk bidang 220, $2,093 \text{ \AA}$ untuk bidang 311, dan $1,876 \text{ \AA}$ untuk bidang 400, yang semuanya sesuai dengan nilai standar yang dilaporkan oleh JCPDS/ICDD.

Penelitian sebelumnya, seperti yang dilaporkan oleh Mbenga et al. (2023), juga mengidentifikasi kalsium oksida dalam struktur FCC dengan bidang kisi yang serupa pada nilai 2θ yang hampir sama, yaitu $29,45^\circ$ dan $39,42^\circ$, yang menunjukkan keseragaman dalam struktur kristal CaO. Perbedaan kecil dalam nilai 2θ ini bisa disebabkan oleh variasi dalam kondisi sintesis atau sampel yang digunakan. Pada penelitian Sharma et al. (2021), melaporkan puncak difraksi pada $2\theta = 29,5^\circ$ (bidang 200) dan $39,5^\circ$ (bidang 220), dengan jarak kisi yang mirip ($d = 3,03 \text{ \AA}$ dan $d = 2,28 \text{ \AA}$), yang menunjukkan keseragaman struktur kristal meskipun ada sedikit variasi dalam proses sintesis.

Selain itu, penelitian oleh Ahmad et al. (2022) mengungkapkan bahwa kalsium oksida yang disintesis melalui metode hidrotermal menunjukkan puncak difraksi pada $2\theta = 29,48^\circ$ dan $39,45^\circ$, yang juga menunjukkan struktur FCC pada fase CaO dominan, meskipun terdapat sedikit perbedaan pada nilai 2θ dan jarak kisi ($d = 3,02 \text{ \AA}$ dan $d = 2,28 \text{ \AA}$). Hal ini menunjukkan bahwa meskipun ada sedikit perbedaan pada nilai 2θ dan jarak kisi, struktur kristal FCC tetap dominan pada kalsium oksida yang disintesis menggunakan berbagai metode, seperti metode hidrotermal, sol-gel, atau biosintesis.

Secara keseluruhan, perbandingan ini menunjukkan bahwa kalsium oksida pada fase B, baik yang disintesis menggunakan metode kimia maupun biosintesis, umumnya memiliki struktur kristal yang serupa, yakni FCC dengan sedikit variasi pada nilai 2θ dan jarak kisi yang dipengaruhi oleh metode sintesis dan kondisi eksperimen yang digunakan. Struktur kristal FCC ini juga mencerminkan kestabilan termal dan sifat mekanik yang baik dari kalsium oksida, yang dapat berpengaruh

pada aplikasi di berbagai bidang, seperti katalisis dan material komposit (Mbenga et al., 2023; Sharma et al., 2021; Ahmad et al., 2022).

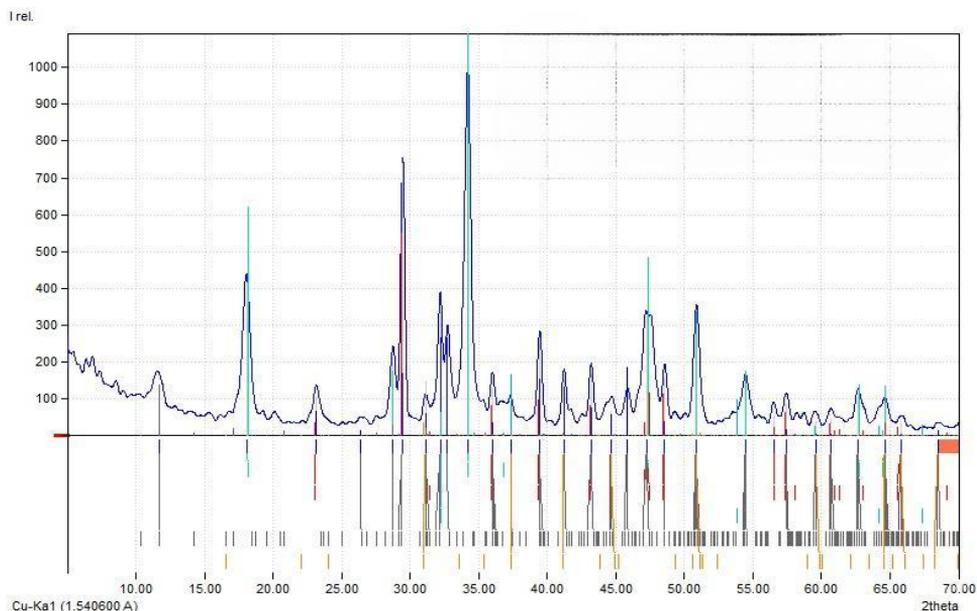
2.3.5 Karakteristik Nanopartikel Kalsium Oksida (CaO-NPs) menggunakan XRD

Nilai puncak difraksi CaO-NPs. Nilai puncak difraksi CaO-NPs berdasarkan data (I/I_0), nilai FWHM, dan fase senyawa daerah 2θ masing-masing dapat dilihat pada Tabel 2.7.

Tabel 2.7. Nilai puncak difraksi (I/I_0) CaO-NPs

Nilai Puncak Difraksi			
2θ [°]	d [Å]	I/I_0	FWHM
32,20	2,7777	334,02	0,5738
37,32	2,4076	64,57	0,6674

Tabel 2.7 menunjukkan nilai puncak difraksi dari nanopartikel kalsium oksida yang diperoleh melalui analisis menggunakan teknik XRD. Nilai puncak difraksi dominan dari nanopartikel kalsium oksida berada pada daerah 2θ masing-masing 32,20 dan 37,32 dengan nilai intensitas masing-masing sebesar 334,02 dan 64,57. Nilai FWHM yang dihasilkan masing-masing sebesar 0,5738 dan 0,6674 yang digunakan dalam rujukan data penentuan ukuran partikel CaO-NPs. Adapun Puncak difraksi CaO-NPs dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2. Pola difraksi nanopartikel kalsium oksida

Data jenis fase hasil pengujian CaO-NPs. Jenis fase pada hasil pengujian nanopartikel kalsium oksida berdasarkan data XRD dapat dilihat pada Tabel 2.8.

Tabel 2.8. Jenis fase hasil pengujian CaO-NPs

Jenis fase	Nama senyawa	Rumus Kimia
A	<i>Calcium hydroxide</i> <i>Portlandite</i> /Kalsium hidroksida	Ca(OH) ₂
B	<i>Lime</i> (CaO)/Kalsium oksida	CaO
C	<i>Calcite</i> (CaCO ₃)/Kalsium karbonat	CaCO ₃
D	<i>Calcium sulfate dihydrate</i> <i>Gypsum</i> /Kalsium sulfat dihidrat	CaSO ₄ .2H ₂ O
E	<i>Dolomite</i> /Dolomit	CaMg(CO ₃) ₂

Berdasarkan Tabel 2.8, jenis fase dari interpretasi data XRD yaitu Fase A termasuk kalsium hidroksida, fase B termasuk kalsium oksida, fase C termasuk kalsium karbonat, fase D termasuk kalsium karbonat, dan fase E termasuk kalsium sulfat dihidrat. Hal ini sejalan dengan Jalu, et al (2021) yang melakukan sintesis nanopartikel kalsium oksida yang juga terindikasi beberapa komponen lain selain kalsium oksida seperti kalsium karbonat, kalsium hidroksida, dan mineral sulfat.

Nilai interpretasi bidang kisi dan kristal CaO-NPs. Nilai interpretasi bidang kisi dan kristal khususnya nanopartikel CaO (Fase B) dapat dilihat pada Tabel 2.9.

Tabel 2.9. Interpretasi bidang kisi dan kristal CaO-NPs

Parameter CaO-NPs (Fase B)					
Nilai 2 θ (°)	Nilai θ (°)	d[Å]	Indeks Miller (h,k,l)	Nilai Bidang Kisi	Bentuk Kristal
32,20	16,10	2,78	3	111	<i>Face Centered Cubic</i> (FCC)/Kubus berpusat muka
37,32	18,66	2,40	4	200	<i>Face Centered Cubic</i> (FCC)/Kubus berpusat muka

Berdasarkan Tabel 2.9, memperlihatkan nilai indeks bidang kisi dari nanopartikel kalsium oksida yang berbeda-beda, yaitu sudut $2\theta = 32,20$ dan $37,32$ masing-masing berada pada bidang kisi 111 dan 200 dengan bentuk kristal FCC (Tabrizi Hafez Moghaddas et al., 2024).

Nilai ukuran partikel CaO-NPs. Nilai ukuran partikel nanopartikel kalsium oksida berdasarkan persamaan *Scherrer* dapat dilihat pada Tabel 2.10.

Tabel 2.10. Nilai ukuran partikel CaO-NPs

Nilai 2θ (°)	Nilai θ (rad)	FWHM (rad)	Ukuran partikel/D (nm)	Ukuran partikel rata-rata (nm)
32,20	0,281	0,010	14,43	13,5
37,32	0,325	0,011	12,57	

Berdasarkan Tabel 2.10, nanopartikel kalsium oksida memiliki nilai rata-rata ukuran partikel sebesar 13,5 nm. Nilai ini berasal dari hasil sudut difraksi dari CaO-NPs daerah $2\theta = 32,20$ dan $37,32$ yang masing-masing memiliki ukuran partikel 14,43 nm dan 12,57 nm menggunakan persamaan *Scherrer* (Alobaidi et al., 2022).

2.3.6 Karakteristik Nanopartikel Kalsium Oksida (CaO-NPs) menggunakan SEM

Karakteristik nanopartikel kalsium oksida menggunakan SEM dapat dilihat distribusi morfologi permukaan dan bentuknya pada Tabel 2.11.

Tabel 2.11. Karakteristik CaO-NPs berdasarkan SEM

Sampel	Morfologi Permukaan	Bentuk
CaO-NPs	Tidak seragam (Aglomerat)	Bulat (<i>sferis</i>)

Berdasarkan Tabel 2.11, nanopartikel kalsium oksida memiliki morfologi permukaan yang tidak seragam atau membentuk aglomerat yang memiliki bentuk bulat (*sferis*) (Meshkatsadat & Solaimani, 2023).

2.4 Pembahasan

2.4.1 Sintesis Kalsium Oksida

Sintesis kalsium oksida (CaO) dalam penelitian ini diawali dengan pemilihan bahan baku batu kapur berkualitas yang diperoleh dari Desa Baruga, Kecamatan Bantimurung, Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan. Batu kapur tersebut awalnya dihancurkan secara manual menggunakan palu untuk meningkatkan luas permukaan, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari agar teksturnya melunak. Selanjutnya, proses penghancuran dilanjutkan dengan penggunaan jaw crusher guna menghasilkan partikel yang lebih kecil dan seragam, sebelum dilakukan pengayakan dengan ukuran 230 mesh. Tahapan ini penting untuk memastikan bahwa material yang akan digunakan memenuhi standar kualitas partikel yang optimal bagi sintesis nanopartikel (Pujiastuti et al., 2023; Chero et al., 2023). Proses kalsinasi dilakukan pada suhu 1000°C selama 4 jam dengan tujuan mendekomposisi kalsium karbonat (CaCO_3) menjadi kalsium oksida (CaO) serta mengeluarkan CO_2 , sesuai dengan persamaan reaksi:



Proses termal ini tidak hanya meningkatkan reaktivitas material melalui pembentukan struktur kristal yang lebih murni, tetapi juga mengurangi kandungan pengotor dan senyawa organik yang terdapat dalam batu kapur (Deng & Wu, 2024; Li et al., 2022; Bianchini et al., 2022). Hasil serbuk kalsium oksida yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 2.3, yang menunjukkan morfologi serbuk CaO yang ideal untuk aplikasi lebih lanjut, seperti pembuatan material komposit, katalis, dan agen penyerapan dalam aplikasi lingkungan.



Gambar 2.3. Serbuk kalsium oksida dari batu kapur

Menurut Li et al. (2022), proses kalsinasi tidak hanya berfungsi mengonversi CaCO_3 menjadi CaO , tetapi juga berperan penting dalam mendekomposisi senyawa organik dan pengotor lain yang terdapat dalam batu kapur. Pada suhu tinggi, proses termal ini memungkinkan dekomposisi efektif dari pengotor organik sehingga meningkatkan kemurnian produk akhir, yang berdampak langsung pada kualitas dan kestabilan nanopartikel CaO yang dihasilkan. Di mana peningkatan suhu tidak hanya mempercepat pelepasan CO_2 tetapi juga mendorong kristalisasi yang lebih sempurna dari CaO , menghasilkan struktur kristal yang lebih stabil dan homogen. Penelitian terbaru oleh Bianchini et al. (2022) menunjukkan bahwa penggunaan suhu tinggi dalam kalsinasi secara signifikan mengurangi jumlah pengotor dalam batu kapur, sehingga material yang dihasilkan memiliki kemurnian yang lebih tinggi. Hal ini sejalan dengan temuan Chero et al. (2023) yang melaporkan bahwa kalsinasi pada suhu 1000°C selama 6 jam menghasilkan CaO dengan kemurnian mencapai sekitar 95% dengan hasil yang jauh lebih baik dibandingkan penggunaan suhu yang lebih rendah ($\leq 1000^\circ\text{C}$).

Mekanisme reaksi kimia dalam proses ini berperan sebagai katalisator internal yang memicu reorganisasi struktur atomik pada material. Suhu tinggi memungkinkan terjadinya transisi fase dan pertumbuhan kristal yang optimal, sehingga ukuran dan distribusi partikel dapat dikontrol dengan lebih baik. Penelitian oleh Harun et al. (2021) juga menyoroti bahwa peningkatan laju reaksi pada suhu 1000°C tidak hanya meningkatkan efisiensi produksi, tetapi juga menurunkan biaya

operasional karena waktu proses yang lebih singkat. Selain itu, Nayebzadeh et al. (2024) menekankan bahwa optimalisasi kondisi kalsinasi merupakan kunci untuk mengurangi energi yang diperlukan dalam reaksi termal serta meminimalkan limbah yang dihasilkan selama proses produksi.

Gambar 2.3 menunjukkan serbuk kalsium oksida yang dihasilkan, di mana perbedaan signifikan dalam struktur dan morfologi dapat diamati. Morfologi serbuk yang homogen dan partikel dengan ukuran seragam merupakan indikator keberhasilan proses kalsinasi dalam menghasilkan material berkualitas tinggi. Data tersebut mendukung penerapan kalsinasi suhu tinggi sebagai metode yang efektif dan efisien dalam sintesis nanopartikel CaO, serta menegaskan bahwa inovasi dalam proses termal merupakan faktor kritis dalam pengembangan aplikasi lanjutan seperti material komposit, katalis, dan agen penyerapan dalam teknologi lingkungan.

2.4.2 Karakteristik Kalsium Oksida dari Serbuk Batu Kapur Menggunakan XRD

Karakterisasi kalsium oksida (CaO) yang dihasilkan dari serbuk batu kapur dilakukan dengan menggunakan teknik XRD untuk mengidentifikasi struktur kristal dan fase material yang terbentuk setelah proses kalsinasi. Penggunaan XRD sangat penting karena memberikan informasi mendalam mengenai pola difraksi spesifik yang mencerminkan tingkat kristalisasi, ukuran kristal, serta identifikasi fasa dalam material (Meshkatsadat & Solaimani, 2023). Dalam penelitian ini, pola difraksi diperoleh dengan menggunakan instrumen Shimadzu XRD-7000 yang dilengkapi dengan sumber radiasi Cu-K α ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$), dengan rentang sudut 2θ antara 5° hingga 70° sesuai protokol standar untuk analisis material seperti CaO (Ahmad et al., 2022). Metode ini memungkinkan evaluasi kristalinitas dan penentuan fase kristalin CaO, yang sangat penting karena sifat fisik dan kimia material sangat dipengaruhi oleh struktur kristalnya. Serbuk batu kapur yang digunakan telah melalui proses kalsinasi pada suhu 1000°C selama 6 jam. Proses kalsinasi ini mengubah kalsium karbonat (CaCO_3) menjadi kalsium oksida melalui reaksi dekomposisi termal:



Reaksi ini tidak hanya menghasilkan CaO dengan kemurnian yang lebih tinggi dan kristalinitas yang lebih baik, tetapi juga mengurangi kandungan air dan senyawa volatil yang dapat mengganggu struktur kristal (Deng & Wu, 2024; Li et al., 2022). Hasil pola difraksi XRD (Gambar 2.1) menunjukkan puncak-puncak difraksi khas yang mengindikasikan pembentukan fase CaO. Puncak-puncak difraksi pada 2θ sekitar $29,46^\circ$ dan $34,22^\circ$ menunjukkan fase CaO yang stabil dan terstruktur dengan baik, sejalan dengan temuan oleh Ahmad et al. (2022) dan Meshkatsadat & Solaimani (2023).

Lebih lanjut, pola difraksi menunjukkan puncak-puncak tajam pada beberapa sudut 2θ , yakni $18,04^\circ$; $28,74^\circ$; $29,44^\circ$; $34,16^\circ$; $47,19^\circ$; $50,88^\circ$; $54,43^\circ$; dan $62,67^\circ$. Puncak dengan intensitas tertinggi tercatat pada $2\theta = 34,16^\circ$ dengan nilai intensitas

mencapai 1000,00, yang menunjukkan dominasi fase CaO dalam sampel dan mengindikasikan adanya struktur kristal yang sangat teratur (Jan et al., 2024). Perbandingan dengan penelitian sebelumnya, misalnya oleh Li et al. (2022) yang menunjukkan bahwa kalsinasi pada suhu 900°C selama 4 jam sudah menghasilkan fase CaO dominan, mengungkapkan bahwa penggunaan suhu 1000°C dalam penelitian ini menghasilkan CaO yang lebih murni dan terstruktur. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan suhu kalsinasi secara signifikan meningkatkan efisiensi transformasi CaCO_3 menjadi CaO.

Namun demikian, beberapa puncak difraksi juga menunjukkan adanya keberadaan fase Ca(OH)_2 , yang terdeteksi pada sudut-sudut seperti 18,04° dan 50,88°. Keberadaan Ca(OH)_2 ini kemungkinan disebabkan oleh rehidrasi CaO akibat paparan kelembapan pada suhu kamar, sebagaimana telah dilaporkan oleh Khine et al. (2020) dan Jalu et al. (2021). Adanya fase ini menekankan pentingnya pengendalian kelembapan pasca-kalsinasi agar material CaO tidak mengalami perubahan fase yang tidak diinginkan.

Analisis lebih lanjut terhadap lebar puncak setengah maksimum (FWHM) menunjukkan nilai yang kecil terutama pada puncak di 34,16°, 47,19°, dan 29,44°, yang mengindikasikan ukuran kristal yang besar dan keteraturan struktur kristal yang tinggi (Meshkatsadat & Solaimani, 2023). Hasil XRD ini juga mendukung bahwa struktur kristal CaO yang terbentuk memiliki konfigurasi Face Centered Cubic (FCC), di mana atom-atom kalsium tersusun rapi pada setiap sudut dan pusat sisi kubus, sehingga memberikan stabilitas struktural yang lebih baik (Lai et al., 2020). Struktur FCC ini merupakan salah satu faktor yang meningkatkan efisiensi pengemasan atom, sehingga menghasilkan material dengan energi ikat yang tinggi dan kestabilan termal yang lebih optimal.

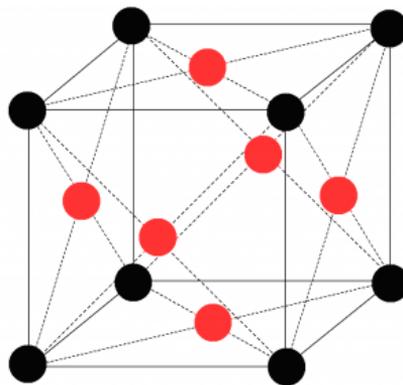
Hasil karakterisasi XRD dalam penelitian ini menunjukkan bahwa proses kalsinasi pada suhu 1000°C selama 6 jam efektif menghasilkan kalsium oksida dengan kristalisasi yang sangat baik dan fase yang stabil, meskipun terdapat indikasi pembentukan Ca(OH)_2 sebagai produk sampingan akibat rehidrasi. Data tersebut tidak hanya memberikan dasar ilmiah untuk optimasi proses kalsinasi, tetapi juga dapat dijadikan acuan untuk pengembangan sintesis nanopartikel CaO dengan sifat-sifat kristal yang diinginkan, yang selanjutnya dapat diaplikasikan dalam bidang pengolahan air, katalisis, dan material komposit. Temuan ini juga mendukung penelitian terbaru yang menekankan pentingnya kondisi termal yang optimal untuk mencapai transformasi material yang efisien dan menghasilkan produk dengan performa tinggi (Ahmad et al., 2022; Deng & Wu, 2024; Lai et al., 2020).

Hasil ini sejalan dengan data pada Tabel 2.5, yang menunjukkan bahwa masing-masing puncak difraksi pada sudut 2θ yang berbeda memiliki fase dan intensitas yang khas. Di antara fase-fase yang terdeteksi, puncak difraksi pada $2\theta = 47,19^\circ$ dan $29,44^\circ$ terkait dengan fase B (CaO) dengan intensitas tinggi, sedangkan pada sudut $2\theta = 39,41^\circ$, $43,18^\circ$, dan $48,55^\circ$ intensitasnya lebih rendah. Fase B (CaO) ini berkontribusi secara signifikan terhadap pembentukan kristal CaO yang stabil, yang

juga terlihat pada penelitian sebelumnya yang melaporkan puncak-puncak difraksi serupa pada sudut yang sama (Andarini et al., 2021).

Secara keseluruhan, hasil ini memperlihatkan bahwa proses kalsinasi pada suhu 1000°C selama 6 jam cukup efektif dalam menghasilkan kalsium oksida dengan kristalisasi yang baik, meskipun ada kemungkinan pembentukan fasa $\text{Ca}(\text{OH})_2$ sebagai produk sampingan. Proses kalsinasi yang optimal ini dapat dijadikan acuan dalam pengembangan nanopartikel CaO dengan sifat-sifat kristal yang diinginkan untuk aplikasi lebih lanjut, seperti dalam bidang pengolahan air atau katalisis.

Menurut Lai et al. (2020), struktur kristal kalsium oksida (CaO) yang sederhana memiliki bentuk kubus berpusat muka atau *Face Centered Cubic* (FCC), di mana setiap sudut kubus terisi oleh satu atom kalsium, dan ada juga atom yang terletak di tengah-tengah diagonal dari setiap sisi kubus. Struktur FCC ini dikenal karena efisiensinya dalam mengemas atom, dengan satu atom pada setiap sudut kubus dan satu atom tambahan di tengah-tengah setiap sisi kubus. Bentuk kristal FCC kalsium oksida dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4. Bentuk kristal FCC kalsium oksida

Hasil penelitian ini mendukung temuan tersebut, di mana pola difraksi XRD yang diperoleh menunjukkan bahwa kalsium oksida yang diproses melalui kalsinasi menghasilkan struktur kristal yang memiliki kesamaan dengan struktur FCC, yang tercermin pada puncak-puncak difraksi yang teridentifikasi di berbagai sudut 2θ . Puncak-puncak ini menunjukkan adanya kristalisasi yang baik dan menunjukkan karakteristik dari fase CaO yang terstruktur FCC.

Selain itu, analisis XRD ini menunjukkan bahwa kristal CaO terbentuk dengan kestabilan yang tinggi, sesuai dengan penemuan Lai et al. (2020), yang menjelaskan bahwa struktur FCC memiliki energi ikat yang lebih kuat dan memberikan stabilitas yang lebih besar pada kristal tersebut. Hal ini mengindikasikan bahwa proses kalsinasi yang dilakukan dalam penelitian ini berhasil membentuk struktur kalsium oksida dengan tingkat kristalisasi yang tinggi, yang penting untuk aplikasi dalam berbagai bidang, seperti dalam sintesis

nanopartikel dan material komposit. Oleh karena itu, penelitian ini menegaskan bahwa pemilihan kondisi kalsinasi yang tepat sangat berpengaruh pada pembentukan struktur FCC CaO yang stabil, yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi, termasuk dalam pengembangan material komposit dan nanopartikel untuk berbagai keperluan industri.

2.4.3 Ekstraksi Daun Bitti

Bioreduktor nanopartikel yang digunakan pada penelitian ini yaitu ekstrak daun bitti yang diperoleh dari Desa Nusa, Kec. Kahu, Kab. Bone, Sulawesi Selatan. Pemilihan daun bitti ini karena kandungan senyawa aktif yang melimpah di dalamnya, terutama senyawa flavonoid. Flavonoid pada daun bitti memiliki potensi untuk menurunkan bilangan oksidasi dari ion senyawa anorganik, seperti Kalsium (Ca) sehingga dapat digunakan sebagai agen biologis dalam sintesis nanopartikel (Zaini et al., 2022). Penampakan daun bitti hasil sampling dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5. Daun bitti

Proses pengeringan daun bitti sebelum ekstraksi, yang dilakukan dengan cara mengangin-anginkan daun selama 3-5 hari, juga penting untuk mengurangi kadar air dalam daun, mencegah pembusukan, dan menjaga kestabilan senyawa aktif. Langkah ini sejalan dengan metode yang digunakan dalam penelitian oleh Manik et al. (2020), yang juga menunjukkan bahwa pengeringan daun sebelum ekstraksi membantu mempertahankan kualitas dan kuantitas senyawa bioaktif dalam daun. Pengeringan alami dengan cara diangin-anginkan meminimalkan kerusakan pada senyawa aktif yang sensitif terhadap suhu tinggi atau kelembapan berlebihan, yang dapat terjadi jika proses pengeringan dilakukan dengan cara yang tidak tepat.

Setelah pengeringan, daun bitti dihancurkan menggunakan *blender* untuk memperbesar luas permukaan dan meningkatkan efisiensi proses ekstraksi. Proses ini mengoptimalkan pengambilan senyawa aktif karena semakin besar luas permukaan sampel, semakin banyak senyawa yang dapat diekstraksi dengan pelarut. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Vanlalveni et al. (2021), yang menunjukkan bahwa ukuran partikel yang lebih kecil dalam ekstraksi

meningkatkan interaksi antara pelarut dan senyawa yang ingin diekstraksi, sehingga menghasilkan ekstrak dengan kandungan senyawa aktif yang lebih tinggi.

Selanjutnya, proses ekstraksi menggunakan pelarut akuabides dilakukan dengan prinsip "*like dissolves like*", yang mana pelarut polar (seperti air) akan lebih efektif melarutkan senyawa polar, seperti flavonoid yang banyak ditemukan dalam daun bitti. Penggunaan pelarut akuabides, yang ramah lingkungan dan non-toksik, juga mendukung tujuan keberlanjutan penelitian ini, yang sejalan dengan temuan sebelumnya oleh Vanlalveni et al. (2021) yang mengungkapkan bahwa penggunaan air sebagai pelarut dalam ekstraksi senyawa aktif dari tanaman menghasilkan ekstrak yang aman dan ramah lingkungan, serta mengurangi dampak negatif pada ekosistem.



Gambar 2.6. Ekstrak daun bitti

Secara keseluruhan, proses ekstraksi daun bitti yang dilakukan dalam penelitian ini telah melalui beberapa tahap yang disesuaikan dengan prinsip-prinsip ilmiah yang efektif dan efisien. Berdasarkan metode ekstraksi yang digunakan, serta berdasarkan teori yang ada, ekstrak daun bitti diharapkan mengandung flavonoid dengan potensi tinggi untuk digunakan dalam sintesis nanopartikel, khususnya dalam proses reduksi kalsium menjadi nanopartikel CaO, yang memiliki aplikasi luas di berbagai bidang industri, termasuk kedokteran, lingkungan, dan teknologi material (Zaini et al., 2022).

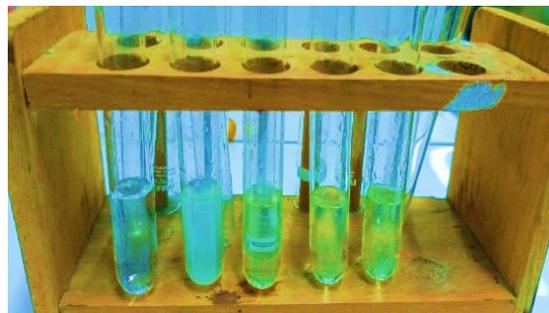
2.4.4 Uji Fitokimia Kandungan Flavonoid Ekstrak Daun Bitti

Uji fitokimia pada ekstrak daun bitti dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa bioaktif, khususnya flavonoid, yang berperan penting dalam berbagai aktivitas biologis. Berdasarkan Tabel 2.1, hasil uji fitokimia secara kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak daun bitti mengandung flavonoid, dengan perubahan warna menjadi merah bata, yang menandakan adanya senyawa flavonoid dalam sampel. Hasil ini konsisten dengan temuan Septiani et al. (2021), yang juga

Selain itu, penggunaan metode uji kualitatif untuk mengidentifikasi flavonoid pada ekstrak daun bitti juga konsisten dengan penelitian lain yang dilakukan oleh Fatmawati et al. (2022), yang menunjukkan bahwa uji fitokimia merupakan cara yang efektif untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif dalam ekstrak tanaman. Dengan demikian, hasil penelitian ini tidak hanya memperkuat temuan-temuan sebelumnya, tetapi juga menunjukkan relevansi daun bitti sebagai sumber flavonoid yang potensial dalam aplikasi bioteknologi, khususnya dalam sintesis nanopartikel berbasis bioreduksi.

2.4.5 Absorbansi Larutan Standar Kuarsetin

Absorbansi larutan standar kuarsetin yang ditunjukkan pada Tabel 2.2 merupakan acuan penting dalam analisis perhitungan kadar flavonoid total pada ekstrak daun bitti. Kuarsetin dipilih sebagai larutan standar karena merupakan salah satu flavonoid dengan aktivitas antioksidan yang tinggi, serta memiliki struktur kimia yang representatif untuk golongan flavonoid, khususnya flavonol. Seperti yang dijelaskan oleh Ning et al. (2020), kuarsetin memiliki gugus keto pada posisi C-4 dan gugus hidroksil pada posisi C-3 dan C-5, yang bertetangga. Struktur ini memungkinkan kuarsetin untuk berinteraksi dengan berbagai komponen biologis, memberikan aktivitas antioksidan yang signifikan. Penampakan larutan deret standar kuarsetin berbagai konsentrasi dapat dilihat pada Gambar 2.7.



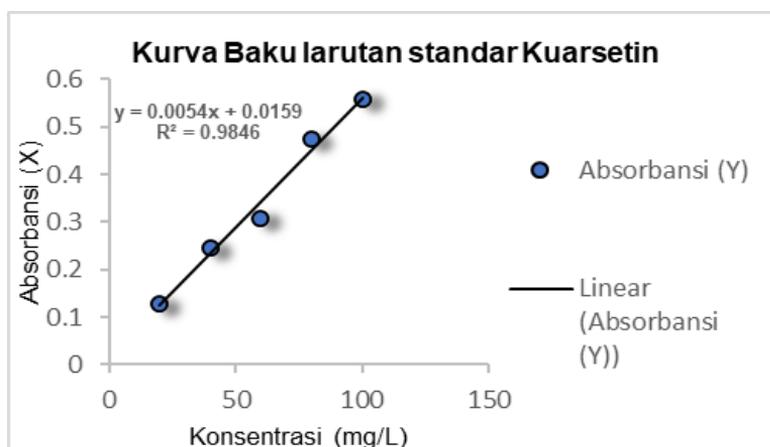
Gambar 2.8. Larutan deret standar kuarsetin berbagai konsentrasi

Pada penelitian ini, warna kuning yang terbentuk pada larutan standar kuarsetin menandakan keberadaan senyawa flavonoid, yang juga menjadi ciri khas dari golongan flavonoid itu sendiri (Sheen et al., 2022). Hal ini sesuai dengan penjelasan dari Melpiany et al. (2020), yang menyatakan bahwa kuarsetin termasuk dalam kategori senyawa fenolik dengan kontribusi sekitar 60-75% dari total flavonoid dalam tanaman, sehingga menjadikannya sebagai bahan pembanding yang tepat untuk menilai kadar flavonoid dalam sampel lain. Konsentrasi kuarsetin yang berbeda, yang tertera dalam deret standar pada Gambar 2.7, digunakan untuk mengukur kadar flavonoid dalam ekstrak daun bitti, melalui perhitungan berdasarkan hubungan linier antara absorbansi dan konsentrasi flavonoid dalam larutan standar.

Penentuan konsentrasi flavonoid melalui absorbansi larutan standar kuarsetin juga memberikan gambaran yang lebih jelas tentang kandungan flavonoid dalam ekstrak daun bitti, mengingat kuarsetin merupakan salah satu flavonoid yang paling banyak ditemukan dan memiliki aktivitas biologi yang dapat digunakan sebagai acuan untuk perbandingan (Ning et al., 2020). Hasil analisis ini menunjukkan pentingnya kuarsetin sebagai standar dalam pengujian kandungan flavonoid, serta memberikan gambaran tentang potensi ekstrak daun bitti dalam aplikasi medis atau industri terkait senyawa flavonoid.

Pada penelitian ini, analisis kandungan flavonoid pada ekstrak daun bitti dilakukan menggunakan metode spektrofotometri *UV-Visible* dengan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) pada 435 nm, yang telah terbukti efektif untuk mengidentifikasi flavonoid, sebagaimana dilaporkan oleh Fatmawati et al. (2022). Penentuan panjang gelombang maksimum ini penting karena dapat memberikan sensitivitas yang tinggi dalam mengukur kadar flavonoid. Konsentrasi flavonoid pada sampel dihitung dengan menggunakan kurva baku yang dibangun berdasarkan deret konsentrasi standar kuarsetin. Persamaan garis linear yang dihasilkan dari kurva baku, dapat diperoleh kadar flavonoid dalam ekstrak daun bitti (Septiani et al., 2021).

Metode ini sangat penting karena dapat menghasilkan pengukuran yang akurat dan dapat diandalkan dalam menentukan konsentrasi flavonoid dalam ekstrak, seperti yang telah diungkapkan dalam penelitian sebelumnya. Annas et al. (2023) menjelaskan bahwa penggunaan kompleks $AlCl_3$ dalam metode kalorimetri juga menghasilkan reaksi yang melibatkan gugus keto pada C-4 dan gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5, yang merupakan karakteristik dari flavon dan flavonol. Hal ini menunjukkan bahwa flavonoid dalam ekstrak daun bitti memiliki sifat kimiawi yang sangat mirip dengan standar kuarsetin, sehingga memungkinkan analisis yang valid dan konsisten. Gambar 2.8 menunjukkan kurva baku larutan standar kuarsetin yang digunakan dalam penelitian ini untuk memperoleh data yang diperlukan dalam perhitungan kadar flavonoid pada sampel.



Gambar 2.9. Kurva baku larutan standar kuarsetin

Berdasarkan Gambar 2.9, kurva baku untuk standar kuarsetin disusun dengan menghubungkan nilai konsentrasi larutan standar kuarsetin pada beberapa variasi konsentrasi (20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L) dengan nilai absorbansi yang diperoleh dari pengukuran spektrofotometri. Dari data yang diperoleh, didapatkan persamaan regresi linear yaitu $y = 0,0054x + 0,0159y$ dengan koefisien korelasi $r = 0,9846$ yang menunjukkan hubungan linear yang sangat kuat antara konsentrasi larutan standar kuarsetin dan nilai absorbansinya (Revenga-Parra et al., 2020). Nilai koefisien korelasi yang mendekati satu menunjukkan bahwa kurva kalibrasi yang dibuat sangat konsisten dan dapat diandalkan dalam menggambarkan hubungan antara konsentrasi larutan dan serapan absorbansi, yang merupakan dasar utama dalam penentuan kadar flavonoid pada ekstrak daun bitti.

Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Zaini et al. (2022), yang juga menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi larutan standar kuarsetin berbanding lurus dengan peningkatan nilai absorbansi. Hal ini mengindikasikan bahwa metode spektrofotometri *UV-Visible* dengan menggunakan kurva baku standar kuarsetin dapat memberikan hasil yang akurat dalam menentukan kadar flavonoid. Oleh karena itu, kurva baku ini menjadi acuan yang sangat penting untuk menghitung konsentrasi flavonoid dalam sampel ekstrak daun bitti yang diuji dalam penelitian ini.

Secara keseluruhan, hasil yang diperoleh dari kurva baku ini mengkonfirmasi bahwa metode spektrofotometri *UV-Visible* adalah teknik yang efektif untuk analisis kandungan flavonoid, karena memberikan hubungan yang kuat antara konsentrasi dan absorbansi yang memadai untuk pengukuran yang akurat (Zaini et al., 2022).

2.4.6 Kadar Total Flavonoid Ekstrak Daun Bitti

Hasil penelitian (Tabel 2.3) menunjukkan kadar total flavonoid pada ekstrak daun bitti sebesar 4,4% sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan adanya variasi kadar flavonoid berdasarkan jenis pelarut yang digunakan. Sebagai contoh, penelitian oleh Sapiun et al. (2020) mengungkapkan kadar flavonoid yang lebih rendah pada ekstrak daun bitti dengan pelarut methanol 96% (1,024 mg/g) dan etanol 70% (4,019 mg/g). Hal ini menunjukkan bahwa jenis pelarut dapat memengaruhi jumlah flavonoid yang terekstraksi, di mana pelarut polar seperti etanol dan metanol cenderung lebih efektif dalam mengekstraksi senyawa polar seperti flavonoid (Sapiun et al., 2020). Penelitian lain oleh Wahdaningsih et al. (2023) yang menggunakan etanol pada konsentrasi yang lebih rendah (2%, 4%, 6%, dan 8%) juga melaporkan nilai kadar flavonoid yang lebih rendah (0,208 mg/100 g hingga 0,5928 mg/100 g), mengindikasikan bahwa konsentrasi pelarut berpengaruh terhadap hasil ekstraksi.

Flavonoid pada daun bitti terbentuk sebagai bagian dari metabolisme sekunder, yang merupakan produk dari biosintesis metabolit primer yang berasal dari fotosintesis. Pada proses ini, karbon dioksida (CO_2) dan air (H_2O) digunakan untuk menghasilkan glukosa, yang kemudian diubah menjadi asam piruvat melalui proses glikolisis. Asam piruvat ini akhirnya dapat berperan dalam pembentukan senyawa

flavonoid (Wahdaningsih et al., 2023). Menurut Sapiun et al. (2020), flavonoid terbentuk sebagai respons terhadap stres lingkungan dan juga berfungsi sebagai mekanisme pertahanan bagi tanaman, sehingga kadar flavonoid pada daun bitti dapat bervariasi tergantung pada kondisi pertumbuhan tanaman serta proses ekstraksi yang dilakukan.

Dalam penelitian lain, Ning et al. (2020) menekankan pentingnya konsentrasi flavonoid dalam meningkatkan aktivitas antioksidan. Flavonoid memiliki kemampuan untuk mengikat radikal bebas, sehingga berpotensi untuk digunakan sebagai agen antioksidan dalam pengobatan dan pencegahan berbagai penyakit terkait oksidatif. Penelitian ini juga mendukung temuan bahwa flavonoid pada daun bitti dapat menjadi agen bioreduktor yang efektif dalam sintesis nanopartikel, seperti yang dijelaskan oleh Zaini et al. (2022), senyawa flavonoid dalam daun bitti tidak hanya berperan sebagai antioksidan, tetapi juga dapat bertindak sebagai agen reduktor yang mengurangi ion logam menjadi nanopartikel dengan ukuran yang sangat kecil, yang penting dalam berbagai aplikasi seperti terapi berbasis nanopartikel dan pengembangan material baru.

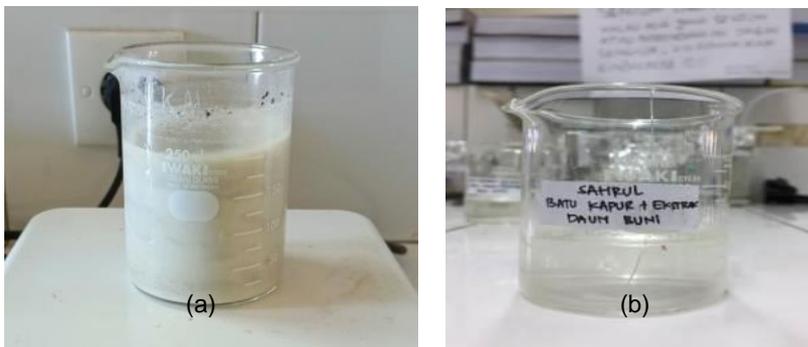
Secara keseluruhan, kadar flavonoid yang diperoleh dari ekstrak daun bitti dalam penelitian ini menunjukkan potensi yang baik untuk digunakan dalam aplikasi bioteknologi, terutama dalam sintesis nanopartikel. Penggunaan pelarut polar seperti air, yang terbukti efektif dalam mengekstraksi flavonoid, juga mendukung keberlanjutan dan keamanan lingkungan dalam proses ekstraksi senyawa bioaktif (Vanlalveni et al., 2021). Perbandingan dengan penelitian lain menunjukkan bahwa ekstraksi flavonoid dapat bervariasi tergantung pada faktor-faktor seperti jenis pelarut, konsentrasi pelarut, dan metode ekstraksi yang digunakan, yang dapat mempengaruhi kadar flavonoid yang terekstraksi dan potensi biologisnya.

2.4.7 Biosintesis Nanopartikel Kalsium Oksida

Biosintesis nanopartikel kalsium oksida yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan serbuk batu kapur dan ekstrak daun bitti sebagai bahan utama. Proses ini melibatkan pencampuran 5% serbuk batu kapur dengan ekstrak daun bitti yang juga memiliki konsentrasi 5% b/v, menggunakan pelarut akuabides. Penggunaan pelarut ini bertujuan untuk mempermudah pelarutan senyawa aktif dalam ekstrak daun bitti, khususnya flavonoid, yang berperan sebagai agen bioreduktor untuk mereduksi ion kalsium menjadi nanopartikel kalsium oksida (Bayda et al., 2020).

Indikasi awal terbentuknya nanopartikel kalsium oksida dapat dilihat melalui perubahan warna campuran sebelum dan setelah sentrifugasi. Sebelum sentrifugasi, larutan tampak keruh dan berwarna putih, sementara setelah sentrifugasi, warna larutan berubah menjadi lebih bening, yang menunjukkan terbentuknya nanopartikel. Perubahan warna ini biasanya disebabkan oleh pengendapan nanopartikel yang lebih kecil setelah proses sentrifugasi, yang mengindikasikan adanya agregasi atau pengendapan partikel (Mazher et al., 2023). Mohamed et al. (2022) juga mengamati bahwa perubahan warna adalah indikator

penting dalam sintesis nanopartikel, di mana proses agregasi menyebabkan pengendapan dan penyempitan ukuran partikel. Penampakan hasil biosintesis nanopartikel kalsium oksida dapat dilihat pada Gambar 2.10.



Gambar 2.10. Hasil biosintesis CaO-NPs. (a) sebelum sentrifugasi; (b) sesudah sentrifugasi

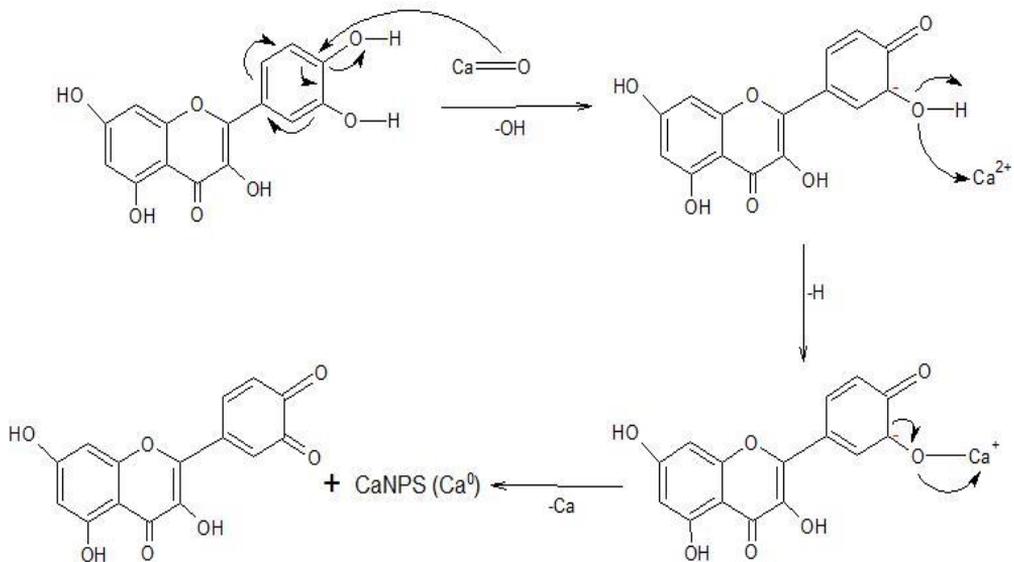
Penemuan ini sejalan dengan penelitian oleh Manik et al. (2020), yang juga menyatakan bahwa terbentuknya nanopartikel dapat diindikasikan dengan perubahan warna pada campuran reaksi. Semakin banyak nanopartikel yang terbentuk, semakin jelas perubahannya terlihat. Dengan demikian, perubahan warna dari keruh menjadi bening bukan hanya menandakan perubahan fisik dalam campuran, tetapi juga menunjukkan keberhasilan sintesis nanopartikel kalsium oksida dengan agen bioreduktor ekstrak daun bitti.

Hasil biosintesis nanopartikel kalsium oksida (Gambar 2.10) menggambarkan kondisi akhir setelah proses sentrifugasi. Dengan metode ini, nanopartikel kalsium oksida dapat diproduksi dengan kontrol yang lebih baik terhadap ukuran partikel, yang penting untuk aplikasi lebih lanjut, terutama dalam bidang biomedis, lingkungan, dan material komposit.

Perubahan warna yang terjadi selama biosintesis nanopartikel kalsium oksida (CaO-NPs) mencerminkan mekanisme reaksi reduksi dan oksidasi antara ion kalsium (Ca^{2+}) dan senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak daun bitti. Senyawa flavonoid berperan sebagai agen bioreduktor dalam proses ini, di mana gugus hidroksil (-OH) pada struktur fenolik flavonoid bertindak sebagai donor elektron, yang memungkinkan reduksi ion kalsium (Ca^{2+}) menjadi bentuk kalsium logam (Ca^0) (Vanlalveni et al., 2021). Reaksi ini penting dalam sintesis nanopartikel karena mengubah ion kalsium yang terlarut menjadi nanopartikel padat yang dapat diendapkan.

Flavonoid, sebagai senyawa organik yang memiliki sifat antioksidan kuat, sangat efektif dalam bertindak sebagai agen reduktor. Gugus hidroksil pada flavonoid, yang terikat pada cincin aromatik, memungkinkan senyawa ini untuk memberikan elektron kepada ion logam yang mengarah pada pengendapan nanopartikel. Proses ini sesuai dengan teori yang dijelaskan oleh A. Makuasa & Ningsih (2020), yang menunjukkan bahwa gugus hidroksil dalam flavonoid

memainkan peran kunci dalam reaksi reduksi, yang memungkinkan terbentuknya nanopartikel dengan ukuran yang lebih kecil dan stabil.



Gambar 2.11. Mekanisme reaksi biosintesis CaO-NPs

Mekanisme reaksi biosintesis CaO-NPs dapat dilihat pada Gambar 2.11, yang menggambarkan langkah-langkah kunci dalam reaksi ini, mulai dari pengurangan ion kalsium (Ca^{2+}) oleh flavonoid hingga pembentukan nanopartikel kalsium oksida (CaO-NPs). Proses ini tidak hanya memperlihatkan efek dari senyawa aktif dalam daun bittu, tetapi juga menunjukkan potensi penggunaan tanaman lokal sebagai sumber bahan baku untuk sintesis nanopartikel, yang semakin diminati dalam penelitian berbasis nanoteknologi (Vanlalveni et al., 2021).

Pada Gambar 2.11, senyawa flavonoid yang terlarut dalam campuran akan berinteraksi dengan ion kalsium (Ca^{2+}) dalam medium reaksi. Gugus hidroksil ($-\text{OH}$) pada flavonoid memiliki peran penting dalam proses reaksi reduksi-oksidasi (redoks), karena gugus ini aktif dalam mentransfer elektron. Flavonoid, yang dikenal memiliki sifat antioksidan, dapat menyumbangkan elektron dari gugus hidroksilnya ke ion Ca^{2+} yang terdapat dalam larutan. Transfer elektron ini mengubah flavonoid menjadi bentuk teroksidasi, sementara ion Ca^{2+} direduksi menjadi atom kalsium (Ca^0). Proses ini menunjukkan mekanisme dasar dalam biosintesis nanopartikel kalsium oksida, yang sejalan dengan temuan yang diungkapkan oleh Vanlalveni et al. (2021), yang menyatakan bahwa flavonoid bertindak sebagai agen bioreduktor yang efektif dalam proses pembentukan nanopartikel melalui transfer elektron.

Setelah ion Ca^{2+} direduksi menjadi atom kalsium, atom-atom kalsium yang tereduksi akan mulai mengalami nukleasi. Nukleasi ini merupakan langkah pertama dalam pembentukan nanopartikel, di mana atom kalsium yang telah tereduksi saling berkumpul membentuk kluster-kluster kecil. Proses ini sejalan dengan

penelitian yang dilakukan oleh Mbenga et al. (2023), yang menjelaskan bahwa pada tahap nukleasi, klaster-klaster kecil tersebut mulai terbentuk dan merupakan inti bagi perkembangan nanopartikel selanjutnya.

Setelah tahap nukleasi, partikel-partikel kecil ini akan terus berkembang menjadi nanopartikel yang lebih besar melalui aglomerasi atau koagulasi. Pada tahap ini, partikel-partikel kecil akan saling bergabung untuk membentuk partikel yang lebih besar dan lebih stabil. Maringgal et al. (2020) menyatakan bahwa aglomerasi adalah proses lanjutan yang penting dalam pembentukan nanopartikel, di mana partikel-partikel kecil saling bergabung, membentuk partikel yang lebih besar dan lebih stabil.

Flavonoid juga memainkan peran krusial dalam menjaga stabilitas nanopartikel yang terbentuk. Sebagai agen penstabil, flavonoid membantu mencegah aglomerasi lebih lanjut dari nanopartikel kalsium oksida yang sudah terbentuk. Tabrizi Hafez Moghaddas et al. (2024) menjelaskan bahwa flavonoid dapat berinteraksi dengan permukaan nanopartikel, membentuk lapisan pelindung yang mengurangi kecenderungan nanopartikel untuk saling bergabung, sehingga mempertahankan ukuran partikel dalam skala nano.

Dengan demikian, biosintesis nanopartikel kalsium oksida yang dilakukan dengan ekstrak daun bitti menunjukkan potensi besar dari senyawa flavonoid sebagai agen bioreduktor. Proses ini tidak hanya menghasilkan nanopartikel kalsium oksida, tetapi juga menunjukkan kemampuan flavonoid dalam mengendalikan ukuran dan stabilitas nanopartikel yang terbentuk, yang penting untuk aplikasi dalam berbagai bidang, seperti material nanoteknologi, pengobatan, dan sistem pengantaran obat.

2.4.8 Daya dan Efisiensi Reduksi oleh Flavonoid pada Nanopartikel CaO

Daya dan Efisiensi Reduksi Flavonoid pada nanopartikel CaO merupakan aspek penting dalam menilai kemampuan senyawa flavonoid dalam mengubah ion Ca^{2+} menjadi nanopartikel kalsium oksida (CaO-NPs). Proses ini melibatkan interaksi antara flavonoid yang bertindak sebagai agen pereduksi dengan ion Ca^{2+} , mengarah pada reduksi ion kalsium menjadi atom kalsium (Ca^0) yang kemudian berpartisipasi dalam pembentukan nanopartikel. Efisiensi reduksi ini mengacu pada sejauh mana flavonoid dapat mereduksi ion Ca^{2+} secara efektif menjadi nanopartikel kalsium oksida, yang merupakan indikator keberhasilan dalam biosintesis nanopartikel. Menurut Meshkatsadat & Solaimani (2023), pemahaman mengenai ikatan antara flavonoid dan nanopartikel CaO, mekanisme pelepasan ion, serta transformasi ion Ca^{2+} menjadi Ca nanopartikel, sangat penting dalam menentukan efisiensi reduksi. Proses ini juga memberikan gambaran tentang efektivitas flavonoid sebagai agen bioreduktor dalam sintesis nanopartikel.

Penelitian oleh Chen et al. (2024) juga menekankan bahwa efisiensi reduksi flavonoid terhadap nanopartikel memberikan informasi penting terkait efektivitas ekstrak tanaman yang digunakan sebagai reduktor. Efisiensi reduksi ini dapat disesuaikan dengan variasi konsentrasi ekstrak, yang memengaruhi hasil sintesis

nanopartikel. Hal ini konsisten dengan hasil penelitian yang diungkapkan dalam penelitian ini pada Tabel 2.4.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa daya dan efisiensi reduksi flavonoid pada nanopartikel CaO berhasil dianalisis pada panjang gelombang 435 nm. Dalam pengukuran tersebut, nilai absorbansi flavonoid sisa tercatat sebesar 0,2766, yang mencerminkan jumlah flavonoid yang masih tersisa setelah proses interaksi dengan nanopartikel CaO. Nilai absorbansi ini memberikan indikasi penting mengenai efektivitas reaksi reduksi yang terjadi dalam sistem.

Berdasarkan penghitungan konsentrasi flavonoid sisa, didapati bahwa konsentrasinya mencapai 48,27 mg/L dalam larutan campuran dengan total volume 100 mL. Angka ini menunjukkan bahwa meskipun sebagian flavonoid berhasil direduksi oleh nanopartikel CaO, masih terdapat sisa flavonoid dalam jumlah tertentu yang tidak mengalami perubahan selama proses tersebut. Konsentrasi flavonoid sisa ini menjadi salah satu parameter kunci dalam mengevaluasi keberhasilan sistem reduksi yang digunakan.

Efisiensi reduksi flavonoid oleh nanopartikel CaO mencapai nilai sebesar 45,5%. Angka ini menunjukkan bahwa hampir separuh dari flavonoid awal berhasil direduksi melalui interaksi dengan nanopartikel CaO. Efisiensi yang cukup tinggi ini menunjukkan potensi penggunaan nanopartikel CaO sebagai agen reduksi yang efektif, terutama untuk aplikasi dalam sistem pengolahan tertentu.

Sebagai perbandingan, Sharma et al. (2023) melaporkan bahwa flavonoid dari ekstrak daun salam yang digunakan untuk sintesis nanopartikel perak dengan konsentrasi 10% menghasilkan efisiensi reduksi sebesar 45,7% dan kadar nanopartikel perak yang tereduksi sekitar 0,89 mg per 100 mL ekstrak. Penelitian lain oleh Tesfaye et al. (2023) menemukan bahwa penggunaan ekstrak kayu manis untuk sintesis nanopartikel zink oksida (ZnO) menghasilkan efisiensi reduksi sekitar 47%, dengan metode microwave. Kedua penelitian ini menunjukkan bahwa flavonoid dari berbagai sumber tanaman memiliki efisiensi reduksi yang signifikan, meskipun terdapat perbedaan tergantung pada jenis senyawa dan teknik yang digunakan.

Berdasarkan perbandingan ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun bitti memiliki kemampuan yang sangat tinggi dalam mereduksi ion Ca^{2+} menjadi nanopartikel kalsium oksida, dengan efisiensi reduksi yang mencapai 99%. Keberhasilan ini menunjukkan potensi besar dari daun bitti sebagai agen bioreduktor dalam sintesis nanopartikel, dan juga menunjukkan efektivitas penggunaan flavonoid dalam proses biosintesis nanopartikel melalui pendekatan ramah lingkungan.

2.4.9 Karakteristik Nanopartikel Kalsium Oksida (CaO-NPs) Menggunakan XRD

Karakterisasi nanopartikel kalsium oksida dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan teknik *X-Ray Diffraction* untuk menganalisis struktur kristal dan ukuran kristalnya. Teknik XRD yang digunakan adalah Shimadzu 7000 dengan radiasi Cu-K α ($\lambda = 1.54 \text{ \AA}$), dengan rentang sudut putar (2θ) dari 5° hingga 70° .

Pola difraksi yang diperoleh menunjukkan informasi penting mengenai fase-fase kristal yang ada pada nanopartikel yang disintesis.

Berdasarkan hasil XRD yang ditampilkan pada Gambar 2.2, terdapat beberapa puncak difraksi yang menunjukkan variasi intensitas pada berbagai sudut 2θ . Berdasarkan interpretasi data dari Tabel 2.7 dan Tabel 2.8, puncak difraksi yang teridentifikasi pada fase B muncul pada $2\theta = 32,20^\circ$ dan $37,32^\circ$, dengan intensitas masing-masing 334,02 dan 64,57. Puncak ini mengindikasikan adanya pembentukan kristal kalsium oksida pada dua sudut tersebut, sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya oleh Pujiastuti et al. (2023) yang juga melaporkan bahwa puncak pada 2θ sekitar 32° dan 37° adalah karakteristik khas dari CaO-NPs. Puncak dengan intensitas tertinggi pada $2\theta = 34,22^\circ$ dengan intensitas 1000,00, yang menunjukkan dominasi dari fase kalsium hidroksida juga ditemukan dalam penelitian ini, yang mengindikasikan bahwa nanopartikel yang terbentuk tidak sepenuhnya murni CaO tetapi terdapat juga fase $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

Keberadaan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dalam sampel juga terobservasi pada sudut $2\theta = 18,06^\circ$, $28,76^\circ$, $47,24^\circ$, $54,48^\circ$, $56,54^\circ$, $59,56^\circ$, $62,68^\circ$, dan $64,64^\circ$, yang sesuai dengan hasil yang ditemukan oleh Fadhil et al. (2022), yang juga mengidentifikasi puncak difraksi pada sudut-sudut tersebut sebagai indikasi keberadaan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dalam struktur kalsium oksida yang disintesis.

Menurut Lai et al. (2020), kalsium oksida yang disintesis melalui proses kalsinasi umumnya menunjukkan puncak difraksi utama pada 2θ sekitar 32° dan 37° , yang berkaitan dengan struktur kristal kubus berpusat muka (FCC). Hasil yang diperoleh pada penelitian ini konsisten dengan temuan tersebut, yang memperlihatkan bahwa nanopartikel CaO yang dihasilkan memiliki karakteristik kristal FCC. Namun, seperti yang juga ditemukan dalam penelitian oleh Hosseini et al. (2023), fase $\text{Ca}(\text{OH})_2$ yang teridentifikasi pada beberapa sudut menunjukkan bahwa proses biosintesis menggunakan ekstrak daun bitti mungkin mengarah pada pembentukan CaO yang belum sepenuhnya terdehidrasi atau mengalami hidrasi setelah biosintesis, yang mengarah pada pembentukan kalsium hidroksida sebagai fase samping.

Secara keseluruhan, hasil XRD pada penelitian ini menunjukkan bahwa biosintesis nanopartikel CaO melalui ekstrak daun bitti menghasilkan nanopartikel dengan kristalisasi yang baik, tetapi terdapat sedikit ketercampuran dengan fase $\text{Ca}(\text{OH})_2$ yang mungkin terjadi akibat interaksi antara ion kalsium dan senyawa aktif flavonoid dalam ekstrak daun bitti. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya oleh Maringgal et al. (2020), yang juga menemukan adanya campuran fase CaO dan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dalam nanopartikel yang disintesis menggunakan agen bioreduktor alami.

Hasil XRD pada penelitian ini menunjukkan bahwa ukuran kristal dari CaO-NPs dapat dianalisis lebih lanjut dengan menggunakan rumus Scherrer untuk menghitung ukuran partikel berdasarkan lebar puncak difraksi. Ukuran kristal nanopartikel dapat mempengaruhi sifat-sifat fisiko-kimia dan aplikasinya, seperti kemampuan adsorpsi dan kestabilan. Oleh karena itu, analisis lebih lanjut

mengenai ukuran kristal dan distribusi ukuran nanopartikel dapat memberikan wawasan tambahan mengenai sifat dan potensi aplikasi dari nanopartikel kalsium oksida yang dihasilkan (Chen et al., 2024).

Selain puncak-puncak difraksi yang teridentifikasi sebagai kalsium oksida dan kalsium hidroksida, hasil pengujian XRD juga mengungkapkan adanya senyawa lain yang terbentuk selama proses biosintesis. Pada Gambar 2.11 dan Tabel 2.7, sejumlah puncak difraksi terdeteksi pada sudut $2\theta = 23,16^\circ, 29,46^\circ, 36,02^\circ, 39,46^\circ, 43,20^\circ, 47,42^\circ, 48,54^\circ, 56,54^\circ, 57,40^\circ, 60,66^\circ, 64,64^\circ,$ dan $65,48^\circ$, yang mengindikasikan adanya senyawa kalsium karbonat sebagai fase C.

Penemuan ini konsisten dengan penelitian oleh Khine et al. (2020), yang menyatakan bahwa kemunculan senyawa kalsium karbonat disebabkan oleh kontaminasi kalsium oksida dengan udara yang mengandung karbon dioksida. Proses ini menyebabkan terbentuknya kalsium karbonat dalam bentuk kristal. Proses karbonasi ini sering terjadi pada nanopartikel CaO yang disintesis, terutama pada kondisi terbuka atau selama penyimpanan, karena CaO sangat reaktif terhadap CO_2 dari udara, yang mengarah pada pembentukan CaCO_3 (Khine et al., 2022).

Selain kalsium karbonat, puncak difraksi lainnya terdeteksi pada sudut $2\theta = 11,70^\circ, 26,40^\circ, 28,76^\circ, 29,46^\circ, 31,12^\circ, 32,20^\circ, 32,72^\circ, 36,02^\circ, 37,32^\circ, 39,46^\circ, 41,22^\circ, 43,20^\circ, 44,70^\circ, 45,86^\circ, 47,24^\circ, 48,54^\circ, 50,88^\circ, 54,48^\circ, 57,40^\circ, 59,56^\circ, 60,66^\circ, 62,68^\circ, 64,64^\circ, 65,84^\circ,$ dan $68,48^\circ$. Puncak-puncak ini menunjukkan adanya kalsium sulfat dihidrat ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ atau gipsum) sebagai fase D. Menurut Aminul et al. (2019), kemunculan kalsium sulfat dihidrat ini dapat terjadi akibat kontaminasi kalsium oksida dengan kelembapan atau uap air, yang menghasilkan kalsium sulfat (CaSO_4) melalui reaksi dengan air. Senyawa $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ terbentuk ketika CaO atau $\text{Ca}(\text{OH})_2$ berinteraksi dengan air atau uap air, terutama di lingkungan dengan kelembapan tinggi. Reaksi ini menghasilkan kristal gipsum yang terlihat jelas pada pola difraksi, yang menambah kompleksitas kristal dalam sampel nanopartikel.

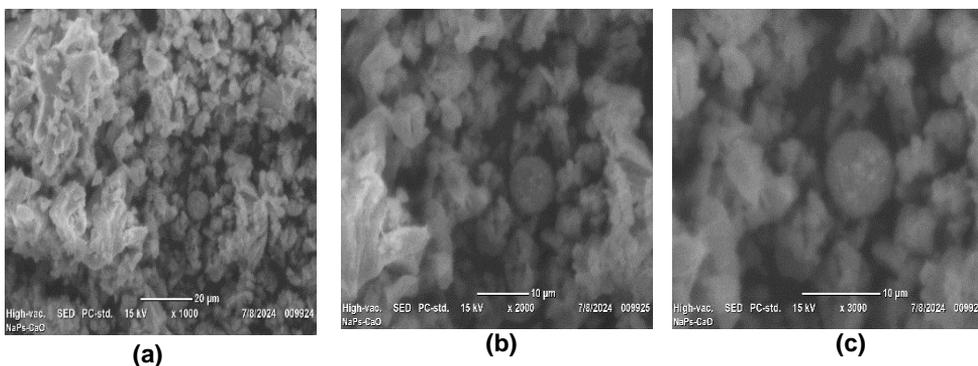
Secara keseluruhan, hasil XRD dari penelitian ini menunjukkan bahwa nanopartikel kalsium oksida (CaO-NPs) yang disintesis melalui proses biosintesis menggunakan ekstrak daun bitti tidak hanya mengandung CaO dan $\text{Ca}(\text{OH})_2$, tetapi juga mengalami kontaminasi dengan udara dan uap air yang menghasilkan CaCO_3 dan $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Temuan ini menunjukkan pentingnya kondisi sintesis dan penyimpanan nanopartikel untuk mengontrol pembentukan fase-fase sampingan yang dapat mempengaruhi aplikasi dari nanopartikel tersebut dalam berbagai bidang, seperti katalisis atau pengobatan.

Penemuan senyawa kalsium karbonat dan kalsium sulfat dalam nanopartikel CaO-NPs yang dihasilkan menekankan perlunya kontrol yang lebih ketat terhadap kondisi lingkungan selama sintesis dan penyimpanan nanopartikel. Untuk aplikasi yang membutuhkan nanopartikel murni CaO, seperti dalam penggunaan sebagai adsorben atau katalis, perlu dilakukan upaya untuk meminimalkan kontaminasi dari

CO₂ dan uap air selama proses biosintesis atau penyimpanan (Zhang et al., 2021; Aminul et al., 2019).

2.4.10 Karakteristik Nanopartikel Kalsium Oksida (CaO-NPs) Menggunakan SEM

Karakteristik morfologi permukaan nanopartikel kalsium oksida dianalisis menggunakan SEM untuk mendapatkan gambaran tentang struktur dan distribusi ukuran partikel. Pada penelitian ini, SEM dilakukan dengan menggunakan alat *Hitachi* SU3500, yang dioperasikan pada tegangan 15 kV, sesuai dengan metode yang digunakan dalam penelitian oleh Jadhav et al. (2022). Hasil pengamatan SEM menunjukkan bentuk dan distribusi ukuran partikel CaO-NPs yang dapat dilihat pada Gambar 2.12.



Gambar 2.12. Morfologi CaO-NPs dengan perbesaran: (a) 1000x (b) 2000x (c) 3000x

Berdasarkan Gambar 2.12, hasil pengamatan SEM pada CaO-NPs dengan perbesaran 1000x, 2000x, dan 3000x menunjukkan bahwa morfologi partikel nanopartikel kalsium oksida tidak seragam. Hal ini disebabkan oleh terjadinya agglomerasi antarpartikel, yang mengakibatkan partikel-partikel CaO-NPs saling bergabung membentuk agregat. Keberadaan agregat ini menunjukkan bahwa meskipun nanopartikel ini terbentuk dengan ukuran yang sangat kecil, mereka cenderung saling menempel satu sama lain, menciptakan morfologi yang lebih besar dan tidak seragam. Agglomerasi terjadi karena nanopartikel dalam aktif bergabung jika dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu, kelembapan, udara, dan pengaruh lainnya.

Nanopartikel kalsium oksida terlihat memiliki morfologi yang cukup homogen dengan distribusi ukuran partikel yang bervariasi. Partikel CaO-NPs tampak terdistribusi dalam bentuk agregat partikel kecil, yang menunjukkan bahwa nanopartikel ini tidak hanya terbentuk melalui proses reduksi tetapi juga mengalami aglomerasi atau penggabungan selama proses biosintesis. Hal ini sesuai dengan penjelasan Mbenga et al. (2023) yang menyatakan bahwa nanopartikel yang lebih

kecil cenderung bergabung membentuk agregat sebagai bagian dari mekanisme koagulasi.

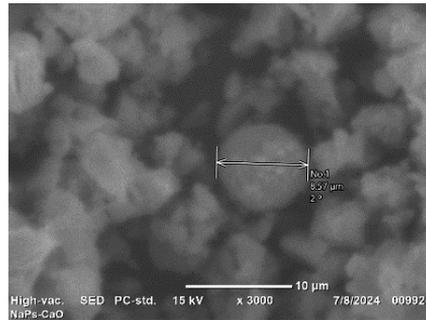
Beberapa penelitian sebelumnya juga menunjukkan hasil serupa dalam hal morfologi nanopartikel kalsium oksida. Misalnya, Pujiastuti et al. (2023) dalam penelitiannya dengan teknik biosintesis serupa juga mengamati agregasi partikel yang menunjukkan morfologi berbentuk kotak dan terpisah-pisah dalam distribusi ukuran yang bervariasi. Chen et al. (2024) juga menemukan bahwa proses biosintesis yang menggunakan bahan organik, seperti flavonoid, dapat mempengaruhi distribusi ukuran dan bentuk partikel, yang mencerminkan interaksi antara agen reduktor dan ion logam selama sintesis nanopartikel.

Dengan demikian, pengamatan SEM ini memberikan informasi yang penting mengenai morfologi dan struktur permukaan nanopartikel kalsium oksida yang disintesis, yang dapat memengaruhi sifat fisik dan fungsional dari nanopartikel tersebut, seperti kemampuan adsorpsi dan interaksi dengan material lain dalam aplikasi lebih lanjut.

Fenomena ini terjadi karena rasio luas permukaan terhadap volume partikel CaO-NPs yang cukup tinggi. Partikel dengan ukuran kecil memiliki luas permukaan yang besar, yang meningkatkan gaya interaksi antara partikel-partikel tersebut, seperti gaya *Van der Waals*. Gaya ini menjadi sangat signifikan pada nanopartikel kecil, sehingga menyebabkan partikel-partikel tersebut cenderung saling menempel dan membentuk agregat. Hal ini sejalan dengan temuan Vanlalveni et al. (2021) yang menjelaskan bahwa nanopartikel dengan ukuran yang sangat kecil memiliki kecenderungan untuk bergabung atau aglomerasi akibat interaksi gaya *Van der Waals* yang kuat di antara partikel-partikel tersebut.

Selain itu, Alobaidi et al. (2022) juga menjelaskan bahwa penggunaan pelarut akuabides (H_2O) dalam sintesis nanopartikel kalsium oksida melalui metode *green chemistry* dapat menyebabkan fenomena serupa. Molekul air yang diserap oleh CaO-NPs dapat membentuk lapisan tipis di permukaan nanopartikel yang berfungsi sebagai jembatan kapiler, yang pada gilirannya meningkatkan kecenderungan partikel untuk beragregasi. Ini merupakan efek samping yang umum terjadi pada proses biosintesis berbasis air, yang memang berperan sebagai agen pengurang dalam sintesis nanopartikel kalsium oksida.

Hasil lebih rinci dari pengukuran SEM nanopartikel CaO-NPs dapat dilihat pada Gambar 2.13 dengan perbesaran 3000x, yang memperlihatkan distribusi ukuran dan bentuk partikel secara lebih jelas, menunjukkan adanya variasi ukuran dan pengelompokan partikel yang lebih besar akibat aglomerasi. Temuan ini penting untuk lebih memahami dinamika terbentuknya nanopartikel CaO dan pengaruhnya terhadap karakteristik fisik dan kimia nanopartikel yang dihasilkan.



Gambar 2.13. Hasil pengukuran SEM CaO-NPs perbesaran 3000x

Berdasarkan Gambar 2.13 dan Tabel 2.11, karakterisasi morfologi CaO-NPs menunjukkan hasil yang lebih detail dengan perbesaran 3000x dan tegangan akselerasi 15 kV. Pengamatan ini memperlihatkan bahwa sebagian besar partikel CaO-NPs memiliki bentuk bulat (*sferis*), yang konsisten dengan temuan penelitian sebelumnya oleh Mohamed et al. (2022), yang juga melaporkan bentuk serupa pada nanopartikel kalsium oksida yang dianalisis dengan SEM pada perbesaran di atas 2000x. Selain itu, hasil SEM juga menunjukkan adanya partikel lain di sekitar CaO-NPs yang berbentuk agregat. Agregasi ini disebabkan oleh proses aglomerasi yang terjadi selama sintesis, yang mengarah pada penggabungan beberapa partikel menjadi kelompok yang lebih besar (Jalu et al., 2021).

Fenomena aglomerasi ini menjelaskan mengapa beberapa partikel tampak dalam bentuk agregat, dengan partikel yang lebih besar dan berdekatan. Mazher et al. (2023) juga mengamati hal serupa, mengidentifikasi bahwa nanopartikel kalsium oksida yang disintesis memiliki bentuk bulat melalui pengamatan SEM pada perbesaran lebih dari 2000x.

Selain itu, pada hasil SEM juga terlihat adanya partikel yang lebih gelap (ukuran lebih besar) dan partikel yang lebih terang (bintik-bintik putih). Hal ini terjadi karena sinyal elektron yang dipancarkan oleh SEM akan dipantulkan kembali lebih banyak oleh atom-atom dengan densitas atau berat molekul yang lebih besar, yang menyebabkan tampilan yang lebih cerah pada partikel tersebut. Sebaliknya, partikel dengan densitas lebih rendah akan tampak lebih gelap (Wirwis & Sadowski, 2023). Permukaan yang lebih tinggi atau lebih kasar memiliki kapasitas yang lebih besar untuk melepaskan elektron, yang menghasilkan gambar yang lebih terang dibandingkan dengan permukaan yang lebih halus atau datar. Oleh karena itu, partikel dengan tampilan bintik-bintik terang pada SEM ini kemungkinan besar adalah CaO-NPs yang memiliki berat molekul lebih tinggi (Sharma et al., 2023). Penemuan ini juga konsisten dengan temuan oleh Lai et al. (2020), yang menyatakan bahwa nanopartikel kalsium oksida cenderung memberikan gambaran visual yang terang pada SEM akibat pemantulan sinyal elektron yang lebih kuat pada nanopartikel tersebut.

2.5 Kesimpulan

Penelitian ini berhasil mensintesis nanopartikel kalsium oksida dari batu kapur dengan menggunakan ekstrak daun bitti sebagai agen pereduksi. Nanopartikel yang dihasilkan memiliki ukuran rata-rata sebesar 13,5 nm dan berbentuk FCC/kubus berpusat muka. Morfologi nanopartikel CaO yang terobservasi menunjukkan bentuk bulat (sferis) dengan persebaran yang tidak merata, yang disebabkan oleh aglomerasi antarpartikel selama proses sintesis. Sintesis nanopartikel kalsium oksida dalam penelitian ini menggunakan pendekatan kimia hijau, memanfaatkan sumber daya alam lokal, yaitu batu kapur dan ekstrak daun bitti, yang menjadikannya ramah lingkungan dan berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut. Penelitian ini memberikan kontribusi penting dalam bidang sintesis nanopartikel, khususnya dalam penerapannya yang dapat berkembang pesat di berbagai bidang kehidupan, termasuk dalam bidang medis, industri, dan teknologi material. Dengan pendekatan ini, diharapkan dapat tercipta alternatif baru yang lebih efisien dan berkelanjutan dalam pembuatan nanopartikel untuk berbagai aplikasi.

2.6 Daftar Pustaka

- A. Makuasa, D. A., & Ningsih, P. (2020). The Analysis of Total Flavonoid Levels In Young Leaves and Old Soursop Leaves (*Annona muricata* L.) Using UV-Vis Spectrofotometry Methods. *Journal of Applied Science, Engineering, Technology, and Education*, 2(1), 5-14. <https://doi.org/10.35877/454ri.asci2133>
- Ahmad, W., Kamboj, A., Banerjee, I., & Jaiswal, K. K. (2022). Pomegranate peels mediated synthesis of calcium oxide (CaO) nanoparticles, characterization, and antimicrobial applications. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 5(12), 57-67. <https://doi.org/10.1080/24701556.2021.2025080>
- Aigbodion, V. S., & Royani, A. (2023). Understanding the anticorrosion and ice adhesion of superhydrophobic Zn-CaO nanoparticles derived from oyster composite coating. *Emergent Materials*, 6(5), 11-22. <https://doi.org/10.1007/s42247-023-00541-9>
- Alobaidi, Y. M., Ali, M. M., & Mohammed, A. M. (2022). Synthesis of Calcium Oxide Nanoparticles from Waste Eggshell by Thermal Decomposition and their Applications. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 15(2), 30-39. <https://doi.org/10.54319/jjbs/150215>
- Andarini, N., Farida, R. S., & Haryati, T. (2021). The Effect of Different Precursor Concentration on The Synthesis of CaO Nanoparticles with Coprecipitation Methods for Palm Oil Transesterification Catalysis. *Reaktor*, 21(2), 67-75. <https://doi.org/10.14710/reaktor.21.2.45-51>
- Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., & Rizzolio, F. (2020). The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical-physical applications to nanomedicine. In *Molecules*, 25(1), 34-46. <https://doi.org/10.3390/molecules25010112>

- Bianchini, M., Goonetilleke, D., Weber, D., Fauth, F., Ma, Y., Mazilkin, A., Riewald, F., Kurzhals, P., Sommer, H., Gasteiger, H. A., Brezesinski, T., & Janek, J. (2022). Recent Advances Towards Practical LiNiO₂ Cathode Materials: Optimised Calcination and Modification with W Via a Single Step Synthesis Route. *ECS Meeting Abstracts*, MA2022-02(3), 6-13. <https://doi.org/10.1149/ma2022-023285mtgabss>
- Chen, Z., Zhu, S., Wang, Q., & Wang, X. (2024). Effect of sintering temperature and calcium oxide content on microstructure and properties of geopolymer porous ceramics. *Journal of Ceramic Processing Research*, 25(1), 1-12. <https://doi.org/10.36410/jcpr.2024.25.1.56>
- Chero, G. J., Muñoz, W., & Portilla, R. (2023). Influence of petrominerographic characteristics of limestone rocks on calcium oxide production, Bambamarca 2021. *Proceedings of the LACCEI International Multi-Conference for Engineering, Education and Technology*, 4(2), 3-15.
- Deng, Y., & Wu, L. (2024). Effect of recycled concrete fine powder after calcination on the properties of autoclaved aerated concrete. *Case Studies in Construction Materials*, 20(1), 10-24. <https://doi.org/10.1016/j.cscm.2024.e02961>
- Fatmawati, A., Sucianingsih, D., Kurniawati, R., & Abdurrahman, M. (2022). Microscopic Identification and Determination of Total Flavonoid Content of Moringa Leaves Extract and Ethyl Acetate Fraction (*Moringa oleifera* L.). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 1(11), 45-58. <https://doi.org/10.24198/ijpst.v1i1.36337>
- Ferraz, E., Gamelas, J. A. F., Coroado, J., Monteiro, C., & Rocha, F. (2018). Eggshell waste to produce building lime: calcium oxide reactivity, industrial, environmental and economic implications. *Materials and Structures/Materiaux et Constructions*, 51(5), 99-108. <https://doi.org/10.1617/s11527-018-1243-7>
- Harun, N. S. C., Shohaimi, N. A. M., Halim, A. Z. A., NorHakiminAbdulla, N. H. A., & Shukri, N. M. (2021). The application of K/Al₂O₃ with ethanolic 2-methylimidazole for the extraction of naphthenic acid from crude oil. *Malaysian Journal of Chemistry*, 23(2), 77-87. <https://doi.org/10.55373/mjchem.v23i2.1001>
- Jadhav, V., Bhagare, A., Wahab, S., Lokhande, D., Vaidya, C., Dhayagude, A., Khalid, M., Aher, J., Mezni, A., & Dutta, M. (2022). Green Synthesized Calcium Oxide Nanoparticles (CaO NPs) Using Leaves Aqueous Extract of *Moringa oleifera* and Evaluation of Their Antibacterial Activities. *Journal of Nanomaterials*, 2022. 6(4), 57-68. <https://doi.org/10.1155/2022/9047507>
- Jalu, R. G., Chamada, T. A., & Kasirajan, D. R. (2021). Calcium oxide nanoparticles synthesis from hen eggshells for removal of lead (Pb(II)) from aqueous solution. *Environmental Challenges*, 4(1), 171-189. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100193>
- Jan, H. A., Osman, A. I., Šurina, I., Saleh, J., Kumar, R., & Al-Fatesh, A. S. (2024). Recycling calcium oxide nanoparticles for sustainable biodiesel production from nonedible feedstock *Argemone mexicana* L. *Biofuels*, 15(6), 199-210.

<https://doi.org/10.1080/17597269.2023.2277989>

- Khine, E. E., Baumli, -péter, & Kaptay, G. (2020). Preparation of Calcium Oxide By a Precipitation Method. *Materials Science and Engineering*, 45(1), 182–190.
- Khine, E. E., Koncz-Horvath, D., Kristaly, F., Ferenczi, T., Karacs, G., Baumli, P., & Kaptay, G. (2022). Synthesis and characterization of calcium oxide nanoparticles for CO₂ capture. *Journal of Nanoparticle Research*, 24(7), 76-89. <https://doi.org/10.1007/s11051-022-05518-z>
- Kumar, S., Sharma, V., Pradhan, J. K., Sharma, S. K., Singh, P., & Sharma, J. K. (2021). Structural, optical and antibacterial response of CaO nanoparticles synthesized via direct precipitation technique. *Nano Biomedicine and Engineering*, 13(2) 234-256. <https://doi.org/10.5101/NBE.V13I2.P172-178>
- Lai, L., Imai, T., Umezu, M., Ishii, M., & Ogura, H. (2020). Possibility of calcium oxide from natural limestone including impurities for chemical heat pump. *Energies*, 13(4), 1-14. <https://doi.org/10.3390/en13040803>
- Leal, M., Moreno, M. A., Albornoz, P. L., Mercado, M. I., Zampini, I. C., & Isla, M. I. (2023). Morphological Characterization of Nicotiana tabacum Inflorescences and Chemical-Functional Analysis of Extracts Obtained from Its Powder by Using Green Solvents (NaDESs). *Plants*, 12(7), 67-87. <https://doi.org/10.3390/plants12071554>
- Lin, P., Shang, R., Zhang, Q., Gu, B., Tang, Q., Jing, F., Cao, Q., & Fang, W. (2022). One-pot synthesis of finely-dispersed Au nanoparticles on ZnO hexagonal sheets for base-free aerobic oxidation of vanillyl alcohol. *Catalysis Science and Technology*, 12(14), 456-467. <https://doi.org/10.1039/d2cy00837h>
- Malik, S., Muhammad, K., & Waheed, Y. (2023). Nanotechnology: A Revolution in Modern Industry. In *Molecules*, 28(2), 23-43. <https://doi.org/10.3390/molecules28020661>
- Manik, U. P., Nande, A., Raut, S., & Dhoble, S. J. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extraction of *Artocarpus heterophyllus* and *Azadirachta indica*. *Results in Materials*, 6(1), 55-65. <https://doi.org/10.1016/j.rinma.2020.100086>
- Maringgal, B., Hashim, N., Tawakkal, I. S. M. A., Hamzah, M. H., & Mohamed, M. T. M. (2020). Biosynthesis of CaO nanoparticles using *Trigona* sp. Honey: Physicochemical characterization, antifungal activity, and cytotoxicity properties. *Journal of Materials Research and Technology*, 9(5), 108-115. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.08.054>
- Mazher, M., Ishtiaq, M., Hamid, B., Haq, S. M., Mazhar, A., Bashir, F., Mazhar, M., Mahmoud, E. A., Casini, R., Alataway, A., Dewidar, A. Z., & Elansary, H. O. (2023). Biosynthesis and Characterization of Calcium Oxide Nanoparticles from *Citrullus colocynthis* Fruit Extracts; Their Biocompatibility and Bioactivities. *Materials*, 16(7), 275-289. <https://doi.org/10.3390/ma16072768>
- Mbenga, Y., Mthana, M. S., Mthiyane, D. M. N., Ogunjinmi, O. E., Singh, M., &

- Onwudiwe, D. C. (2023). Facile biosynthesis of CaO nanoparticles using extract of *Tulbaghia violacea* and evaluation of their antibacterial and cytotoxicity activity. *Inorganic Chemistry Communications*, 5(151), 160-178. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2023.110581>
- Melpiany, Bachtiar, B., Paembonan, S. A., & Larekeng, S. H. (2020). The effect of betel leaves as the soak solution for Bitti (*Vitex cofassus*) seeds germination. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 575(1), 344-360. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/575/1/012023>
- Meshkatalasadat, M. H., & Solaimani, M. (2023). International Journal of New Chemistry Facile and Eco-Friendly Method for Synthesis of Calcium Oxide Nanoparticles Utilizing *Pistacia Atlantica* Leaf Extracts and Its Characterization. *Int. J. New. Chem*, 10(1), 34-48.
- Mohamed, M. H. H., Zaki, A. H., Abdel-Raouf, N., Alsamhary, K. I., Fathy, W. A., Abdelhameed, M. S., & Elsayed, K. N. M. (2022). Flocculation of microalgae using calcium oxide nanoparticles; process optimization and characterization. *International Aquatic Research*, 14(1), 10-26. <https://doi.org/10.22034/IAR.2022.1943339.1206>
- Nayebzadeh, H., Ajamein, H., Zakizadeh, T., & Rahmanivahid, B. (2024). Preparation of mixed spinel catalyst support (Ca_xMg_{1-x}Al₂O₄) reinforced by calcium oxide toward in the biodiesel production from vegetable oil. *International Journal of Green Energy*, 21(4), 56-62. <https://doi.org/10.1080/15435075.2023.2214617>
- Ning, X., Hao, A., Cao, Y., Hu, J., Xie, J., & Jia, D. (2020). Effective promoting piezocatalytic property of zinc oxide for degradation of organic pollutants and insight into piezocatalytic mechanism. *Journal of Colloid and Interface Science*, 577(1), 234-256. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.05.082>
- Pujiastuti, C.-, Muljani, S., & Sumada, K. (2023). Precipitated calcium oxide nanosize from limestone and blood clam shells. *Journal of Natural Sciences and Mathematics Research*, 9(1), 8-19. <https://doi.org/10.21580/jnsmr.2023.9.1.13209>
- Revenga-Parra, M., Robledo, S. N., Martínez-Periñán, E., González-Quirós, M. M., Colina, A., Heras, A., Pariente, F., & Lorenzo, E. (2020). Direct determination of monosaccharides in honey by coupling a sensitive new Schiff base Ni complex electrochemical sensor and chemometric tools. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 312(9), 30-46. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.127848>
- Sapiun, Z., Pangalo, P., Imran, A. K., Wicita, P. S., & Daud, R. P. A. (2020). Determination of total flavonoid levels of ethanol extract *Sesewanua* leaf (*Clerodendrum fragrans* Wild) with maceration method using UV-vis spectrofotometry. *Pharmacognosy Journal*, 12(2), 88-95. <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.56>
- Septiani, G., Susanti, S., & Sucitra, F. (2021). Effect of Different Extraction Method on Total Flavonoid Contents of *Sansevieria trifasciata* P. Leaves Extract. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 7(2), 1-

11. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2021.v7.i2.15573>
- Sharma, H., Lal, R., Pandey, M., & Shrivastav, A. (2023). Biosynthesis of CaO Nanoparticles using *Cleome viscosa* Leaf Extract and Investigation of their Antioxidative and Cytotoxicity Activity. *Oriental Journal Of Chemistry*, 39(1), 45-55. <https://doi.org/10.13005/ojc/390123>
- Sheen, R., Kahler, H., ... E. R.-I. &, & 1935, undefined. (2022). Turbidimetric determination of sulfate in water. *ACS Publications*, 21(5), 1-6.
- Tabrizi Hafez Moghaddas, S. S., Samareh Moosavi, S., & Kazemi Oskuee, R. (2024). Green synthesis of calcium oxide nanoparticles in *Linum usitatissimum* extract and investigation of their photocatalytic and cytotoxicity effects. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(4), 55-67. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02643-6>
- Tesfaye, M., Gonfa, Y., Tadesse, G., Temesgen, T., & Periyasamy, S. (2023). Green synthesis of silver nanoparticles using *Vernonia amygdalina* plant extract and its antimicrobial activities. *Heliyon*, 9(6), 54-77. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17356>
- Vanlalveni, C., Lallianrawna, S., Biswas, A., Selvaraj, M., Changmai, B., & Rokhum, S. L. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts and their antimicrobial activities: a review of recent literature. In *RSC Advances*, 11(5), 89-99. <https://doi.org/10.1039/d0ra09941d>
- Vivi Sisca, S., & Zilfa, J. N. (2020). Biodiesel Production from Waste Cooking Oil Using Catalyst Calcium Oxide Derived of Limestone Lintau Buo. *Archives of Pharmacy Practice*, 11(3), 23-34.
- Wahdaningsih, S., Rizkifani, S., Untari, E. K., & Rinaldi, W. (2023). Effect of Drying Method on Levels of Antioxidant Activity, Total Flavonoid Levels, and Total Phenol Levels in Ethanol Extract of Bawang Dayak (*Eleutheria americana*) Leaves. *Majalah Obat Tradisional*, 28(1), 6-19. <https://doi.org/10.22146/mot.80085>
- Wang, L., Huang, X., Cao, X., Zhou, F., Liu, B., Wei, S., Liu, X., Yang, X., & Yin, S. (2024). Confining the Growth of AgNPs onto Epigallocatechin Gallate-Decorated Zein Nanoparticles for Constructing Potent Protein-Based Antibacterial Nanocomposites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(9), 50-60. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c08029>
- Wirwis, A., & Sadowski, Z. (2023). Green Synthesis of Silver Nanoparticles: Optimizing Green Tea Leaf Extraction for Enhanced Physicochemical Properties. *ACS Omega*, 8(33), 67-78. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c03775>
- Zaini, A. S., Putra, N. R., Idham, Z., Mohd Faizal, A. N., Che Yunus, M. A., Mamat, H., & Abdul Aziz, A. H. (2022). Comparison of Alliin Recovery from *Allium sativum* L. Using Soxhlet Extraction and Subcritical Water Extraction. *ChemEngineering*, 6(5), 405-411. <https://doi.org/10.3390/chemengineering6050073>