



**LAPORAN AKHIR**  
**PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA**  
**BIOFUNGISIDA NANOPARTIKEL PERAK DARI *Lactobacillus***  
***delbrueckii* subsp. *bulgaricus***

**Bidang Kegiatan :**  
**PKM Penelitian**

**Oleh:**

NENG YULIA NENGSIH	(G84090036/2009)
FEBY HERYANI PUTRI	(G84090025/2009)
RIZKI MUHAMMAD PERCEKA	(G84090043/2009)
RONI MASRI RAMADANA	(G84100032/2010)

**Dibiayai oleh:**  
**Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat**  
**Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi**  
**Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan**  
sesuai dengan Surat Perjanjian Penugasan Program Kreativitas Mahasiswa  
Nomor : 050/SP2H/KPM/Dit.Litabmas/V/2013, tanggal 13 Mei 2013

**INSTITUT PERTANIAN BOGOR**  
**BOGOR**  
**2013**

### HALAMAN PENGESAHAN

1. Judul Kegiatan : Biofungisida Nanopartikel Perak dari *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*
2. Bidang Kegiatan : (  ) PKM-P ( ) PKM-K ( ) PKMKC  
( ) PKM-T ( ) PKM-M
3. Bidang Ilmu : ( ) Kesehatan (  ) Pertanian  
( ) MIPA ( ) Teknologi dan Rekayasa  
( ) Sosial Ekonomi ( ) Humaniora  
( ) Pendidikan
4. Ketua Pelaksana Kegiatan  
a. Nama Lengkap : Neng Yulia Nengsih  
b. NIM : G84090036  
c. Jurusan : BIOKIMIA  
d. Universitas/Institut/Politeknik : IPB  
e. Alamat Rumah dan No Tel./HP : Jl. Soreang Munjul Rt. 01 Rw.07 Cianjur  
f. Alamat email : yuliasugandi12@gmail.com
5. Anggota Pelaksana Kegiatan : 3 orang
6. Dosen Pendamping  
a. Nama Lengkap dan Gelar : Dr. Suryani, S.P, M.Sc.  
b. NIDN : 0031106807  
c. Alamat Rumah dan No Tel./HP : Jl. Flamboyan IV Ujung No.16  
Taman Cimanggu, Bogor
6. Biaya Kegiatan Total : Rp 9.600.000,00  
a. Dikti : Rp 9.600.000,00  
b. Sumber lain (sebutkan . . . ) :-
7. Jangka Waktu Pelaksanaan : 5 bulan

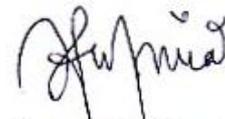
Menyetujui  
Ketua Departemen Biokimia



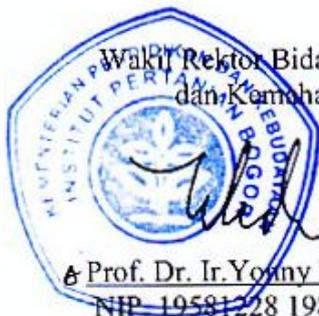
Dr. I Made Artika, M.App Sc  
NIP. 1963017 198903 1 000

Bogor, 22 Juli 2013

Ketua Pelaksana Kegiatan



Neng Yulia Nengsih  
NIM. G84090036



Wakil Rektor Bidang Akademik  
dan Kemahasiswaan

Prof. Dr. Ir. Yonny Koesmaryono, MS  
NIP. 19581228 198503 1 003

Dosen Pendamping



Dr. Suryani, SP, M.Sc  
NIDN. 0031106807

## BIOFUNGISIDA NANOPARTIKEL PERAK DARI *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

Neng Yulia Nengsih<sup>1)</sup>, Feby Heryani Putri<sup>2)</sup>, Rizki Muhammad Perceka<sup>3)</sup>, Roni Masri Ramadana<sup>4)</sup>

- <sup>1)</sup> Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor  
Email: [yunefa\\_12@yahoo.com](mailto:yunefa_12@yahoo.com)
- <sup>2)</sup> Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor  
Email: [febyhp@gmail.com](mailto:febyhp@gmail.com)
- <sup>3)</sup> Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor  
Email: [rizki.mp46@gmail.com](mailto:rizki.mp46@gmail.com)
- <sup>4)</sup> Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor  
Email: [boraksformalin@gmail.com](mailto:boraksformalin@gmail.com)

### Abstrak

Nanopartikel adalah partikel dengan ukuran 1-100 nm. Pemanfaatan nanopartikel perak dalam kehidupan sehari-hari begitu luas. Salah satu pemanfaatan nanopartikel perak yaitu dibidang kesehatan, pertanian, lingkungan, dan teknologi. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan biosintesis nanopartikel perak dari *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* yang akan dimanfaatkan sebagai agen antifungi. Perak nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) direduksi secara ekstraseluler dengan medium de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) yang mengandung senyawa hasil metabolisme *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* dan kemudian membentuk nanopartikel perak dalam bentuk logam. Keberadaan nanopartikel perak dalam larutan uji MRS diketahui dengan menggunakan UV-Vis. Berdasarkan spektrum serapan spesifik nanopartikel perak terdapat pada panjang gelombang 427 nm. Analisis ukuran partikel dengan menggunakan Particle Size Analyser (PSA) memberikan informasi ukuran rata-rata nanopartikel perak yang terbentuk, yaitu sebesar 2,0 nm dengan nilai PI 0,288. Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antifungi yaitu dengan metode difusi. Nanopartikel perak mampu menghambat pertumbuhan fungi patogen *Pyricularia oryzae*. Daerah hambat terbesar terjadi pada nanopartikel perak dengan konsentrasi 75%.

**Kata kunci:** nanopartikel perak, *Lactobacillus delbrueckii* sp, PSA, antifungi

## **Kata Pengantar**

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah *subhanahu wa ta'ala* atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Maret 2013 ini berjudul Biofungisida Nanopartikel Perak dari *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*.

Terima kasih penulis ucapkan kepada Ibu Dr. Suryani, S.P, M.Sc dan bapak Waras Nurcholis, S.Si., M.Si selaku pembimbing yang telah memberikan arahan dan bimbingan. Di samping itu, penghargaan penulis sampaikan kepada staf laboran departemen biokimia yang telah membantu selama penelitian. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada rekan-rekan yang telah membantu dalam penulisan karya ilmiah ini.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat.

Bogor, Agustus 2013

# PENDAHULUAN

## Latar Belakang

Penelitian di bidang nanopartikel menjadi topik yang mulai intensif dilakukan. Nanopartikel adalah partikel yang sangat halus berukuran orde nanometer atau partikel yang ukurannya dalam interval 1-100 nm dan minimal satu dimensi (Bakir 2011). Salah satu jenis nanopartikel tersebut adalah nanopartikel perak. Nanopartikel perak dimanfaatkan dalam berbagai bidang, diantaranya sebagai antifungal (Vivek 2011), antibakteri (Prasad 2011), nanosensor, pestisida, pembersih air dan tanah, pembungkus makanan (Bouwmeester 2007), diagnosis sel kanker (Boxall 2007), dan mengurangi infeksi setelah pembedahan (Kalishwaralal 2009). Di bidang lingkungan nanopartikel dapat diaplikasikan untuk bioremediasi dan indikator dari polutan tertentu (Mohanpuria *et al* 2008).

Secara umum nanopartikel perak dapat disintesis melalui tiga metode, yaitu metode kimia, fisika, dan biologi (Sintubin *at al.* 2009). Sintesis secara kimia menghasilkan limbah berbahaya berupa bahan kimia yang beracun hasil dari proses yang dilakukan sehingga dapat menyebabkan terjadinya pencemaran lingkungan yang berbahaya bagi lingkungan. Bahan-bahan yang digunakan diantaranya natrium tetra borohidrat (Solomon *et al* 2007), benzena, dan tetraklorida karbon (Theodore, L. & Kunz, R.G. 2005). Selain sintesis kimia, sintesis secara fisika juga dapat menimbulkan masalah stabilitas dan agregasi pada nanopartikel perak yang terbentuk (Kariswalalal 2009).

Awal tahun 2000, diketahui bahwa nanopartikel dapat disintesis dari makhluk hidup. Sejak saat itu, perkembangan pemanfaatan makhluk hidup dari mikroorganisme seperti bakteri, ragi, atau kapang (Tolaymat 2010), dan ekstrak tumbuhan atau biomassa tumbuhan (Parson 2007) untuk sintesis nanopartikel semakin meningkat. Metode tersebut menjadi alternatif produksi nanopartikel yang ramah lingkungan (*green synthesis*) karena mampu meminimalisir penggunaan bahan-bahan anorganik dan limbahnya yang berbahaya (Handayani *et al* 2010). Selain itu, metode ini lebih murah, tidak toksik, memiliki produktivitas yang tinggi, dan mudah disesuaikan dengan suhu lingkungan dan tekanan sekitar (Reyes 2009). Proses sintesis nanopartikel dengan memanfaatkan makhluk hidup dikenal sebagai biosintesis (Kumar 2009).

Fungi merupakan organisme heterotrofik yang memerlukan senyawa organik untuk nutrisinya. Cendawan yang sering menyerang tanaman pertanian adalah *Pyricularia oryzae*. Cendawan ini ditemukan banyak menyerang tanaman padi yang menyebabkan penyakit blas. Penyakit yang disebabkan oleh cendawan tersebut dapat menyebabkan kehilangan hasil padi mencapai 30% (Balai Besar Penelitian Tanaman Padi 2012). Salah satu cara pengendalian hama tersebut yaitu dengan memberikan fungisida.

Fungisida merupakan teknik yang sangat praktis dalam mengatasi penyakit yang disebabkan oleh fungi dan cendawan. Pemakaian fungisida, khususnya fungisida sintesis berbahaya karena dapat menimbulkan resistensi patogen dan pencemaran lingkungan. Bahaya fungisida semakin nyata dirasakan masyarakat, terlebih akibat penggunaan fungisida yang tidak bijaksana. Fungisida sintesis berpengaruh negatif terhadap kesehatan manusia, kualitas lingkungan, dan dapat

meningkatkan perkembangan populasi jasad pengganggu tanaman. Maka dari itu perlu alternatif antifungi yang alami dan ramah lingkungan yakni biofungisida.

Penelitian ini menggunakan *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* untuk mensintesis nanopartikel perak. Bakteri tersebut digunakan karena merupakan bakteri yang bersifat nonpatogen (Hugenholtz 2008). Sifat ini memberikan keuntungan karena tidak berbahaya bagi manusia dan lingkungan. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* juga mempunyai masa pertumbuhan yang cepat pada kondisi yang optimum. Stacy (1998) menyatakan bahwa waktu pertumbuhan optimum bakteri ini adalah 12-18 jam, sehingga akan meningkatkan efisiensi waktu dalam memproduksi nanopartikel perak.

### **Rumusan Masalah**

Nanopartikel perak yang disintesis secara fisik dan kimia memiliki kelemahan, yaitu dapat beragregasi saat aplikasi sehingga dapat menurunkan aktivitas antifungi. Nanopartikel perak yang dihasilkan oleh bakteri *Lactobacillus delbrueckii* diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai agen biofungisida.

### **Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan biosintesis nanopartikel perak dari *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* yang akan dimanfaatkan sebagai agen biofungisida..

### **Luaran yang Diharapkan**

1. Memperoleh nanopartikel perak yang dapat digunakan masyarakat sebagai agen antifungi.
2. Program ini diharapkan dapat meningkatkan nilai tambah bagi pemanfaatan *Lactobacillus sp* sebagai mikroba yang sangat bermanfaat bagi manusia.
3. Publikasi berupa jurnal.

### **Kegunaan Program**

1. Bagi Perguruan Tinggi  
Berkembangnya ilmu pengetahuan akan jenis-jenis senyawa kimia yang dapat digunakan senyawa antifungi, sehingga diharapkan dengan adanya senyawa ini dapat menambah pustaka mengenai senyawa nanopartikel.
2. Bagi Mahasiswa  
Pelaksanaan program ini dapat membuat mahasiswa untuk meningkatkan daya berfikir, analisis, dan inovatif, serta dapat mencari solusi akan permasalahan yang sedang diteliti. Selain itu diharapkan dengan program ini dapat meningkatkan solidaritas antar mahasiswa.
3. Bagi Masyarakat  
Hasil dari penelitian ini dapat digunakan masyarakat sebagai antisipasi dekontaminasi air minum kemasan isi ulang. Selain itu, didapatkan referensi baru mengenai antimikroba yang berukuran nanopartikel sehingga aplikasi antimikroba dapat lebih baik.

## TINJAUAN PUSTAKA

### Nanopartikel Perak

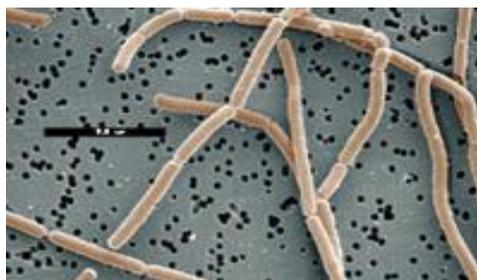
Perak (Ag) adalah logam yang memiliki nomor atom 47, mempunyai bentuk yang mengkilat, mempunyai konduktivitas listrik yang tinggi, dan konduktivitas termal yang tinggi, perak merupakan logam yang bernilai dan mempunyai banyak fungsi yaitu sebagai konduktor, disinfektan, antimikrob, antibiotik. Menurut Lisje (2011) perak telah digunakan sebagai antimikroba. Ion perak dan komponen perak diketahui memiliki efek toksik pada beberapa bakteri, virus, alga dan fungi, sama seperti logam berat timah dan merkuri, namun perak tidak memiliki toksisitas yang tinggi seperti logam yang lainnya. Efek antimikroba dapat membunuh banyak organisme mikrob secara *in vitro* (Chopra 2007). Beberapa tahun terakhir penggunaan perak sebagai biosida dalam larutan, suspensi dan terutama dalam bentuk nanopartikel telah mengalami peningkatan secara dramatis (El-Badawy *et al* 2010).

Nanoperak merupakan salah satu produk berbasis nanoteknologi. Tujuan ion perak dibuat nano karena virus, bakteri dan patogen adalah partikel yang paling kecil yang hidup dalam organisme biologi. Agar perak dapat bekerja efektif, maka ukuran perak harus lebih kecil dari pada virus, bakteri maupun patogen lainnya.

Prinsip cara kerja degradasi bakteri maupun virus oleh nanoperak adalah ketika ion perak bermuatan positif bersentuhan dengan sel mikroba yang bermuatan negatif, mereka akan saling menghisap satu sama lain. Efek sterilisasi tercapai melalui proses *denaturasi* (proses dimana protein atau asam kehilangan struktur utama karena adanya tekanan dari senyawa lain) terhadap protein sel mikroba dan menyebabkan mereka tidak dapat tumbuh. Ion perak bersifat netral didalam air, tahan asam, garam dan berbasah lemah. Stabilitas yang baik terhadap panas dan cahaya. Memiliki daya anti bakteri yang tahan lama (Subagio 2011).

### *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

*Lactobacillus delbrueckii* adalah bakteri Gram positif, berbentuk batang, tidak motil dan tidak membentuk spora. Terdapat tiga spesies subspecies, yaitu *delbrueckii*, *bulgaricus*, dan *lactis*. Seperti bakteri asam laktat lainnya *L. delbrueckii* toleran asam, tidak bisa mensintesis porfirin dan metabolismenya secara fermentasi dengan asam laktat sebagai produk akhir metabolisme utama (Axelson 1998; Hammes & Vogel 1995; Kandler dan Weiss 1986). Klasifikasi ilmiah *L. delbrueckii* adalah domain Bacteria, phylum Firmicutes, class Bacilli, order Lactobacillales, family Lactobacillaceae, Genus Lactobacillus, species *L. delbrueckii*.



Gambar 1 *Lactobacillus delbrueckii*

*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* pertama kali ditemukan oleh Stamen Grigoroy seorang doktor yang berasal dari Bulgaria pada tahun 1905. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* secara luas digunakan pada industri susu sebagai starter untuk yogurt, susu fermentasi dan produksi keju italia (Serror *et al* 2002).

### **Biosintesis Nanopartikel Perak**

Nanopartikel logam memiliki karakteristik yang beragam tergantung pada ukuran dan permukaanya. Nanopartikel perak telah banyak dikaji karena memiliki beragam aplikasi teknologi. Pengembangan metode untuk mensintesis nanopartikel merupakan suatu tantangan bagi peneliti saat ini terutama pengembangan metode yang lebih ramah lingkungan. Biosintesis merupakan metode yang paling ramah lingkungan, metode ini dapat menggunakan ekstrak tanaman, bakteri, dan fungi sebagai agen yang memproduksi protein pereduksi. Metode biologis juga bisa dimanfaatkan untuk mengontrol ukuran nanopartikel.

Tidak semua mikroorganisme mampu memproduksi nanopartikel perak. Mikroorganisme yang mampu mensintesis nanopartikel perak adalah mikroorganismenya yang memiliki ketahanan terhadap logam. Ekstak bioorganismenya memiliki 2 peranan sekaligus yaitu sebagai agen pereduksi dan agen penstabil nanopartikel yang terbentuk (Deepak 2011). Nanopartikel dapat dibentuk dari fungi, bakteri, maupun ekstrak tanaman.

Proses biosintesis nanopartikel logam dibagi menjadi 2 kelompok berdasarkan posisi enzim pereduksi pada organisme yaitu biosintesis intraseluler dan biosintesis ekstraseluler. Partikel yang dihasilkan dalam biosintesis intraseluler dapat lebih kecil ukurannya jika dibandingkan dengan biosintesis ekstraseluler. Penelitian menggunakan metode intraseluler menggunakan fungi oleh Mukhrejee *et al* membuktikan hal ini, pencampuran biomassa fungi fugus *Verticillium* dengan ion  $Ag^+$  menghasilkan nanopartikel perak yang berukuran kecil yaitu  $25 \pm 12$  nm. Namun metode ini lebih sulit diaplikasikan dan hanya sedikit menghasilkan nanopartikel. Sebaliknya metode ekstraseluler lebih mudah ditangani dan menghasilkan protein pereduksi yang lebih banyak. Meskipun telah banyak mikroba yang dapat digunakan untuk memproduksi nanostruktur logam, mekanisme biosintesis nanopartikel masih belum diketahui secara jelas (Fenfen 2012).

### **Antifungi**

Mikroorganisme dapat menyebabkan bahaya karena kemampuan menginfeksi dan menimbulkan penyakit serta merusak bahan pangan. Mikroorganisme dihambat atau dibunuh secara fisik maupun kimia. Bahan antifungi diartikan sebagai bahan yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme fungi.

Kriteria zat ideal yang digunakan sebagai zat antifungi adalah aktivitasnya memiliki spektrum yang luas, tidak bersifat racun, ekonomis, sebaiknya bersifat membunuh daripada hanya menghambat pertumbuhan mikroba. Keadaan-keadaan yang dapat mempengaruhi kerja antifungi antara lain konsentrasi antimikroba yang digunakan, jumlah mikroorganisme, keberadaan bahan organik, suhu, dan pH. Cara kerja zat antifungi pada organisme, yaitu dengan merusak dinding sel, merubah permeabilitas dinding sel, merubah molekul protein dan

asam nukleat, menghambat kerja enzim serta menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Pelczar & Chan 1988).

Efektifitas senyawa antifungi dapat dilihat pada pengujian antifungi dengan menentukan konsentrasi terkecil agar pertumbuhan organisme uji dapat terhambat. Pengujian antifungi dengan menentukan konsentrasi terkecil dilakukan dengan metode difusi.

### **Spektrofotometer UV-vis**

Spektrofotometer adalah suatu instrumen untuk mengukur absorbansi suatu sampel. Menurut Minaelan (2008) metode spektroskopi merupakan teknik yang sangat berguna dalam karakterisasi nanopartikel perak. Pada penelitian yang menganalisis proses biosintesis nanopartikel perak pada beberapa bakteri seperti *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus* and *Candida albicans* secara ekstraseluler, diketahui bahwa metode ini memberikan gambaran yang jelas melalui puncak resonansi plasmon permukaan logam perak. Resonansi plasmon permukaan merupakan fenomena resonansi antara gelombang cahaya dan elektron-elektron pada permukaan logam yang menghasilkan osilasi elektron-elektron di permukaan logam yang dapat diukur kuantitasnya. Perak dan emas merupakan logam yang memiliki resonansi plasmon permukaan (Badia 2007). Resonansi plasmon permukaan ini dapat diketahui dengan instrumen spektrofotometer.

### **Particle Size Analyzer (PSA)**

*Particle size analyzer* (PSA) adalah instrument yang digunakan untuk mengkarakterisasi distribusi ukuran partikel dalam suatu sampel. PSA dapat diaplikasikan pada material padat, suspensi, emulsi dan aerosol. Untuk menganalisis suatu sampel banyak variasi metode yang dapat dilakukan, Beberapa metode dapat digunakan untuk menganalisis partikel dalam jangkauan yang luas, dan beberapa metode lagi digunakan untuk penerapan yang spesifik. PSA hanya spesifik untuk menentukan ukuran partikel yang berbentuk lingkaran. Selain untuk menentukan ukuran partikel. PSA juga dapat digunakan untuk menentukan volume setiap partikel di dalam sampel. Penggunaan difraksi laser merupakan instrumen yang umum digunakan dalam metode pengukuran partikel. Terutama ukuran partikel 0,5  $\mu\text{m}$ -100  $\mu\text{m}$ .

Prinsip kerja PSA yaitu ketika cahaya (laser) dihamburkan oleh kumpulan partikel. Sudut cahaya hamburan berbanding terbalik dengan ukuran partikel. Semakin besar sudut hamburan maka semakin kecil ukuran partikel. Metode analisis ukuran partikel kurang dari 0,5  $\mu\text{m}$  adalah menggunakan metode *Dynamic Light Scattering*. Metode ini merupakan metode termudah yang dapat digunakan (Atascientific 2012).

Pengukuran menggunakan PSA memiliki keunggulan yaitu lebih akurat jika dibandingkan dengan pengukuran partikel dengan alat lain seperti XRD ataupun SEM. Hal ini dikarenakan partikel didispersikan ke dalam medium sehingga ukuran partikel yang terukur adalah ukuran dari *single particle*, Hasil pengukuran dalam bentuk distribusi, sehingga dapat menggambarkan keseluruhan kondisi sampel, serta memiliki rentang pengukuran 0,6 nm-7  $\mu\text{m}$  (Nanotech 2012).

## METODE

### Alat

Alat-alat yang digunakan adalah neraca analitik OHAUS GA 200, *Laminar Air Flow*, inkubator, inkubator bergoyang, spektrofotometer Genesys 10UV, *Beckman High Speed Centrifuge*, autoklaf TOMY *High Pressure Steam Sterilzer* ES-315, PSA, autoklaf, tabung reaksi, tip, labu Erlenmeyer, magnet *stirer*, inkubator, pipet mikro, tusuk gigi, dan cawan petri.

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian terdiri atas bahan untuk sintesis nanopartikel perak dan uji aktivitas antifungi. Bahan sintesis nanopartikel perak terdiri dari isolat *Lactobacillus delbrueckii*, akuades steril, dan  $\text{AgNO}_3$ . Media yang digunakan adalah media MRS broth. Bahan uji aktivitas antifungi terdiri dari media *Potato Dekstros Agar* (PDA), dan fungi uji (*Pyricularia orizae*).

### Prosedur Penelitian

#### Peremajaan Isolat *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

Peremajaan dilakukan untuk membuat stok isolat *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Isolat yang akan diremajakan diambil sebanyak 100  $\mu\text{L}$  dengan menggunakan pipet mikro dan dipindahkan ke dalam 6 labu Erlenmeyer berisi medium MRS yang telah diautoklaf, labu Erlenmeyer 1 memiliki volume 35 mL MRS, labu Erlenmeyer 2 sampai 6 berisi medium MRS masing-masing 10 mL. Labu Erlenmeyer ditutup dan disegel menggunakan plastik *wrap*. Proses ini dilakukan dalam *laminar air flow*. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* yang telah ditumbuhkan pada medium MRS cair, kemudian diinkubasi pada suhu 42 °C selama 18 jam dalam inkubator *shaker* dengan kecepatan 120 rpm.

#### Biosintesis Nanopartikel Perak

*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* yang telah ditumbuhkan pada medium MRS cair, kemudian diinkubasi pada suhu 42 °C dan agitasi 150 rpm selama 24 jam dipisahkan antara biomasa sel dan medium tumbuh, dengan cara sentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Sebanyak 100 mL supernatan dicampurkan dengan 0,017 gram  $\text{AgNO}_3$ . Selanjutnya campuran di inkubasi pada ruang gelap dengan suhu ruang. Campuran diinkubasi selama 30 menit sampai terjadi perubahan warna dari kuning menjadi coklat keruh.

#### Analisis Spektrofotometer UV-Vis

Supernatan yang telah bereaksi dengan  $\text{AgNO}_3$  diambil sebanyak 2 mL kemudian dimasukkan kedalam tabung kuvet. Sebelum dianalisis dilakukan standarisasi menggunakan blanko supernatan yang tidak diberi perlakuan. Setelah distandarisasi, sampel dimasukkan kedalam spektrofotometer UV-Vis yang kemudian dilanjutkan dengan pemindaian pada panjang gelombang 200-800 nm.

#### Analisis PSA

Sampel yang berbentuk Cairan dinalisis terlebih dahulu indeks refraksinya dan viskositasnya. Selanjutnya sampel yang akan dianalisis dimasukkan kuvet analisis PSA. Indeks refraksi logam perak disesuaikan dengan indek refraksi pelarut yang terdapat pada sampel. Kemudian dianalisis ukuran partikel rata-rata.

## PELAKSANAAN PROGRAM

### Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan selama lima bulan, mulai dari bulan April hingga bulan Agustus 2013 di Laboratorium Penelitian Biokimia departemen Biokimia dan Laboratorium Bersama departemen Kimia IPB.

### Jadwal Kegiatan

Kegiatan	Bulan															
	Bulan 1				Bulan 2				Bulan 3				Bulan 4			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Studi literatur																
Penyiapan alat dan bahan																
Permajaan <i>L.delburckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>																
Sintesis dan analisis nanopartikel perak																
Persiapan fungsi uji																
Uji aktivitas antifungi																
Pengolahan data																
Pembuatan laporan akhir																

### Rekapitulasi Rancangan dan Realisasi Biaya

Dana yang di danai dikti adalah sebesar Rp 9.600.000, dana tersebut sudah digunakan untuk kebutuhan penelitian. Total pengeluaran yang digunakan untuk penelitian ini adalah sebesar Rp 7.874.000 dan sisa Rp 1726.000. sisa ini akan digunakan untuk penelitian selanjutnya. Berikut rincian anggaran yang telah digunakan.

Pemasukan (dikti)	: Rp	9.600.000
1. Pengeluaran Administrasi		
Perbanyakan proposal	: Rp	50.000
Pembuatan laporan	: Rp	100.000
Sewa Lab. Biokimia	: Rp	450.000
Sewa Lab. Mikrobiologi	: Rp	350.000
2. Peralatan Lab		
Cawan Petri	: Rp	360.000
Alumunium Foil	: Rp	30.000
Plastik SIL	: Rp	50.000
Korek api	: Rp	5.000
Tissue	: Rp	24.000
Sunlight	: Rp	5.000
Sarung tangan	: Rp	10.000
Lap	: Rp	5.000
Spektropotometer UV-Vis	: Rp	300.000
AAS	: Rp	200.000
PSA	: Rp	2.000.000

Korek api gas	: Rp	5.000
3. Bahan-bahan		
Cendawan <i>Pyricularia oryzae</i>	: Rp	1.000.000
Aquades	: Rp	100.000
Media MRS broth	: Rp	535.000
Media MRS agar	: Rp	110.000
PDA	: Rp	250.000
Gliserol	: Rp	15.000
Alkohol 70%	: Rp	100.000
Kapas	: Rp	70.000
Spiritus	: Rp	50.000
4. Lain-lain		
Transportasi dan akomodasi	: Rp	1.100.000
Komunikasi dan internet	: Rp	500.000
Dokumentasi	: Rp	100.000
<b>TOTAL</b>	<b>: Rp</b>	<b>7.874.000</b>
<b>Sisa</b>	<b>: Rp</b>	<b>1.726.000</b>

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Peremajaan *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

Tahap awal dalam biosintesis nanopartikel perak adalah peremajaan isolat *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Adapun tujuan dari proses peremajaan bakteri ini adalah untuk menjaga agar pertumbuhan bakteri dalam keadaan fisiologis yang optimum. Bakteri ini diremajakan dalam medium *de Man Rogosa and Sharpe* (MRS). Medium ini digunakan karena merupakan medium khusus untuk bakteri asam laktat yang mampu meningkatkan produktivitas dari bakteri asam laktat tersebut. Peremajaan dilakukan selama 16 jam pada suhu 42°C dengan kecepatan 120 rpm (Pratama 2012). Bakteri yang berhasil tumbuh ditandai dengan adanya perubahan warna medium MRS dari bening menjadi keruh dengan bau yang khas (Gambar 1). Perubahan ini disebabkan karena akumulasi dari biomassa sel yang tumbuh pada medium MRS.



Gambar 2 Hasil peremajaan

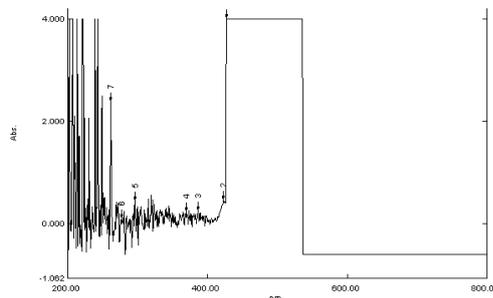
Tahap selanjutnya adalah biosintesis nanopartikel perak. Pemanenan *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* yang akan digunakan biosintesis nanopartikel perak dilakukan pada jam ke-24, karena pada jam tersebut bakteri mengalami fase stasioner (Pratama 2012). Pada saat fase stasioner laju pertumbuhan sama dengan laju kematian sehingga bakteri menghasilkan senyawa

metabolit, tidak hanya senyawa metabolit primer namun juga senyawa metabolit sekunder. Bakteri melepaskan senyawa metabolit sekunder (antibiotik, hormon) untuk mempertahankan hidupnya.

Pemisahan biomassa sel *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* dengan medium pertumbuhan yang telah mengandung senyawa hasil metabolisme bakteri dilakukan dengan menggunakan teknik sentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Biomassa sel bakteri memiliki berat jenis yang lebih besar sehingga terjadi pengendapan, sedangkan medium pertumbuhan bakteri yang akan dipergunakan terletak pada supernatan. Supernatan yang mengandung senyawa metabolit *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kemudian ditambahkan dengan  $\text{AgNO}_3$  (0,017 g/100 mL). Setelah ditambahkan  $\text{AgNO}_3$ , terjadi perubahan warna dari coklat bening menjadi coklat kehitaman dan keruh setelah diinkubasi selama 30 menit pada suhu  $60^\circ\text{C}$  (Gambar 3).



Gambar 3 (A) metabolit ekstraseluler *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* tanpa penambahan  $\text{AgNO}_3$  dan (B) dengan  $\text{AgNO}_3$



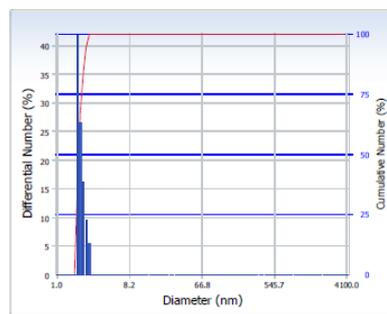
Gambar 4 Spektrum absorpsi nanopartikel perak oleh *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* pada spektroskopi UV-Vis

Perubahan warna pada larutan tersebut menunjukkan terbentuknya nanopartikel perak (Gambar 3). Perubahan warna larutan terjadi diakibatkan karena adanya reaksi antara senyawa organik yang terakumulasi pada medium pertumbuhan bakteri *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* dengan  $\text{AgNO}_3$ . Perubahan ini merupakan penanda awal proses terjadinya bioreduksi. Reaksi ini selanjutnya dikonfirmasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-800 nm. Menurut Solomon *et al* tahun 2007, menyatakan bahwa terbentuknya nanopartikel perak dapat diketahui dengan terbentuknya puncak absorpsi pada panjang gelombang 370-500 nm. Pada penelitian ini terbentuk puncak absorpsi pada panjang gelombang 427 nm.

Analisis nanopartikel perak cukup banyak, bisa dengan mengetahui komposisi kimia, ukuran, dan penyebaran partikelnya (Lin *et al* 2007). Pada penelitian ini dilakukan analisis ukuran dengan menggunakan uji PSA (*Particle Size Analysis*). Tujuan dari pengujian ini adalah untuk mengetahui ukuran partikel

yang telah terbentuk. Hasil pengukuran PSA berbentuk distribusi sehingga dapat digunakan untuk menentukan ukuran partikel secara keseluruhan. Indeks bias sampel 1,3390 dan viskositas sampel 0,8940 cp (Pratama 2012). Nilai indeks bias dan viskositas berfungsi untuk meningkatkan akurasi pengukuran PSA.

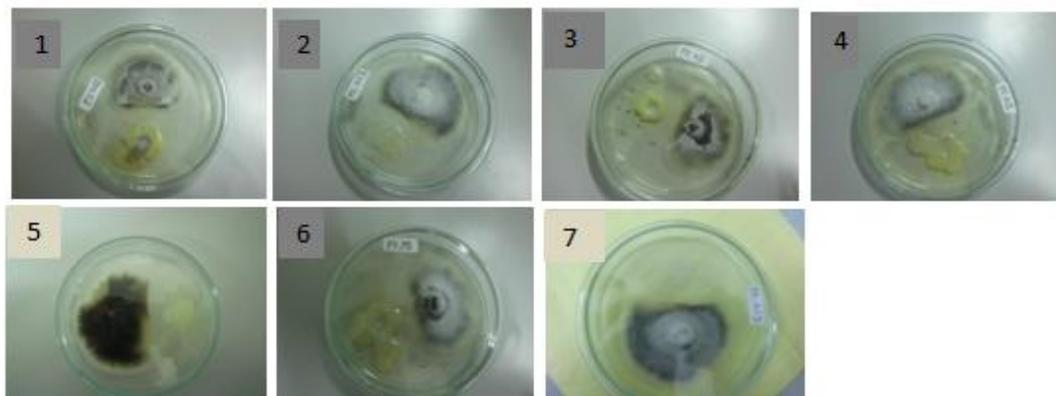
Hasil uji PSA pada penelitian ini diketahui bahwa ukuran rata-rata nanopartikel perak yang terbentuk adalah 2,0 nm dengan nilai PI (Polydispersity Index) sebesar 0,288 (Gambar 4). Nilai PI merupakan distribusi ukuran partikel. Apabila nilai PI lebih kecil dari 1,0 menunjukkan bahwa ukuran partikel lebih homogen, sedangkan PI lebih besar dari 1,0 menunjukkan ukuran partikel cenderung tidak seragam. Hasil penelitian menunjukkan nilai PI kurang dari 1,0, hal ini menunjukkan bahwa ukuran nanopartikel homogen. Dengan demikian terbukti bahwa senyawa metabolit *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* mampu melakukan biosintesis nanopartikel perak.



Gambar 5 Distribusi ukuran nanopartikel perak

### Hasil Uji Aktivitas Antifungi

Uji aktivitas antifungi nanopartikel perak dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar. Konsentrasi nanopartikel perak yang digunakan mulai dari 100%, 75%, 50%, 25%, 10%, 0,5%, dan 0,25%. Kontrol negatif yaitu dengan menggunakan akuades yang tidak terlihat adanya daerah penghambatan dan kontrol positif dengan nistatin terlihat adanya penghambatan. Daerah penghambatan terlihat setelah diinkubasi selama 5 hari pada suhu 25 °C (Gambar 4).



Gambar 4 Aktivitas antifungi terhadap fungi *Pyricularia oryzae* dengan berbagai konsentrasi (1) 0,25% (2) 0,5 % (3) 10 % (4) 25% (5) 50% (6) 75 % (7) 100%

Tabel 1 Daerah penghambatan nanopartikel perak *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* terhadap fungi patogen *Pyricularia oryzae*

Konsentrasi nanopartikel perak (%)	Daerah hambat (mm)
	<i>Pyricularia oryzae</i>
0.25	18.67
0.5	15.67
10	16.33
25	18.67
50	22.67
75	24.33
100	15.33

Aktivitas antifungi nanopartikel perak terhadap fungi patogen *Pyricularia oryzae* dengan berbagai konsentrasi menggunakan metode difusi (Gambar 4). Aktivitas antifungi terbesar adalah pada konsentrasi 75% dengan daerah hambat sebesar 24,33 mm, selanjutnya pada konsentrasi 50% sebesar 22,67 mm. Aktivitas antifungi sudah terlihat mulai dari konsentrasi 0,25% dengan daerah hambat 18,67 mm (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa nanopartikel perak *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* mampu menghambat pertumbuhan fungi patogen *Pyricularia oryzae*.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Senyawa hasil metabolisme *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* memiliki kemampuan untuk melakukan biosintesis nanopartikel perak. Puncak absorpsi dari nanopartikel perak terjadi pada panjang gelombang 427 nm. Molekul organik yang terdapat dalam larutan memiliki peran dalam proses pembentukan nanopartikel perak pada biosintesis dengan cara mereduksi  $\text{AgNO}_3$  menjadi nanopartikel perak. Nanopartikel perak yang terbentuk memiliki ukuran 2,0 nm dan PI 0,288. Nanopartikel perak mampu menghambat pertumbuhan fungi patogen *Pyricularia oryzae* dengan daerah hambat terbesar pada konsentrasi 75% sebesar 24,33 mm.

### Saran

Diperlukan uji lebih lanjut mengenai struktur nanopartikel yang terbentuk perlu dilakukan setelah nanopartikel perak yang terbentuk dipisahkan dari medium. Uji untuk mengetahui protein dan senyawa ekstraseluler spesifik *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* yang berperan dalam biosintesis nanopartikel perak perlu dilakukan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aulana LN. 2005. Pemanfaatan hidrolisat pati sagu untuk produksi asam laktat oleh *Lactobacillus casei* FNCC 266. [Skripsi]. Bogor: IPB.
- Bakir. 2011. Pengembangan biosintesis nanopartikel perak menggunakan air rebusan daun bisbul (*Diospyros blancoi*) untuk deteksi ion tembaga (II) dengan metode kolorimetri. [skripsi]. Depok: UI.
- [BBP Padi] Balai Besar Penelitian Tanaman Padi. 2012. Penyakit padi karena jamur. Subang: BBP Padi.
- Bouwmeester H, Dekkers S, Noordam M, Hagens W, Bulder A, De Heer C, Ten VS, Sijnhoven S. 2007. Health impact of nanotechnologies in food production. *Institute of Food Safety*.
- Boxall ABA, Chaudhry Q, Sinclair C, Jones A, Aitken R, Jefferson B, Watts C. 2007. Current and future predicted environmental exposure to engineered nanoparticle. Sand Hutton. York. UK: *Central Science Laboratory*.
- Deepak V, Kalishwaralal, Pandian SR,uranathan. 2011. An insight into the bacterial biogenesis of silver nanoparticles, industrial production and scale-up. *Springer* 11: 5.
- Duran N, Marcato DP, Alves LO, De Souza G,Esposito E. 2005. Mechanical aspect of biosynthesis of silver nanoparticles by several *Fusarium oxysporum* strains. *Journal of Nanobiotechnology*.3: 8-15.
- El-Badawy A, Feldhake D, Venkatapathy R. 2010. Literature Review: Everything Nanosilver and More. US Environmental Protection Agency: Las Vegas.
- Elizabeth IR.2011. Biosintesis dan karakterisasi nanopartikel silica (SiO<sub>2</sub>) dari sekam oleh *Fusarium oxysporum*. [skripsi]. Bogor: IPB.
- Handayani W, et al. 2010. Potensi ekstrak beberapa jenis tumbuhan sebagai agen pereduksi untuk biosintesis nanopartikel perak. *Seminar nasional biologi*. Fakultas Biologi UGM.
- Hugenholtz Phil. 2008. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Genome Institute: US Department of Energy.
- Gandjar I et al. 2006. *Mikologi: Dasar dan Terapan*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Jain KK. 2008. *The Handbook of Nanomedicine*.Basel: Humana Press
- Kalishwaralal K, Deepak V, Pandian, Kottisamy, Barathmanikanth S, Kartikeyan B, Guranathan S. 2009. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Brevibacterium casei*. *Colloids and Surfaces*. 77 :257-262.
- Kalishwaralal K, RamkumarPandian S B, Deepak V, Mohd B, Sangiliyandi G. 2008. Biosynthesis of silver nanocrystals by *Bacillus licheniformis*. *Biointerfaces* 65: 150-153.
- Kim et al. 2006. Retinol-encapsulated low molecular water soluble chitosan nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics* 319: 130-138.
- Kumar CG, Mamidyala. 2011. Extracellular synthesis of silver nanoparticles using culture supernatant of *Pseudomonas aeruginosa*. *Colloid and Surface BBiointerfaces* 84: 462-466.
- Kumar, V dan Yadav S.K.2009. Plant mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and ther applications. *Journal Chemical Technology and Biotechnology* 84: 151-157.

- Kusmawati E. 2008. Kajian formulasi mentimun (*Cucumis sativus L.*) sebagai minuman probiotik menggunakan campuran kultur *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* subsp. *salivarius*, dan *Lactobacillus casei* subsp. *Rhamnosus* [skripsi]. Bogor: Fakultas teknologi pertanian, IPB.
- Minaelan S, Shahverdi AR, Nohl AS, Shahverdi HR. 2008. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles by some bacteria. *J.Sc.* Vol 17.
- Moghaddam KM. 2010. An introduction to microbial metal nanoparticle preparation method. *The Journal of Young Investigators* 19:19.
- Mohanpuria P, Rana NK, Yadav SK. 2008. Biosynthesis of nanoparticle: Technological concept and future application. *Journal Nanoparticles of Resource.* 10: 507-517.
- Nanotech 2012. Jasa Karakterisasi PSA (Partikel Size Analyzer) dan Zeta potensial. Balai Inkubator Teknologi Serpong-Tangerang.
- Narayanan KB, Sakthivel N. 2010. Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. *Advances in Colloid and Interface Science* N156:1-13.
- Prasad KS, Pathak D, Patel A, Dalwadi P, Prasad R, Patel P, Selvaraj K. 2011. Biogenic synthesis of silver nanoparticles using *Nicotiana tobaccum* leaf extract and study of their antibacterial effect. *African Journal of Biotechnology.* 10: 8122-8130.
- Pratama R. 2012. Pemanfaatan metabolit ekstraseluler *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* dalam pembentukan nanopartikel perak. [skripsi. Bogor: IPB.
- Reis CP, Neufeld RJ, Riberio AJ, Veiga F. 2005. Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-laded polymeric nanoparticles. *Nanomed: Nanotechnol, Biol Med* 2:8-21.
- Reyes. 2009. Biosynthesis of cadmium sulfide nanoparticles by the fungi *Fusarium sp.* *International Journal of Green Nanotechnology: Biomedicine.* 1:B90-B95.
- Saravanan M, Vemu AK, Barik SK. 2011. Rapid biosynthesis of silver nanoparticles from *Bacillus megaterium* (NCIM 2326) and their antibacterial activity on multi drug resistant clinical pathogens. *Colloid Surf B Biointerfaces.* 1;88 (1): 325-31.
- Scardaci, S.C., R.K. *et al.* 1997. Rice blast: a new disease in California. Agronomy Fact Sheet Series 1997-2. Department of Agronomy and Range Science, University of California.
- Setyaningsih I, Desniar dan Sriwardani T. 2005. Konsentrasi hambat minimum ekstrak *Chlorella sp.* Terhadap bakteri dan kapang. *Buletin Tek. Hasil Perikanan* 8: 25-34.
- Sintubin L, De Windt W, Dick J, Mast J, van der Ha D, Verstraete W, Boon N. 2009. The antibacterial activity of biogenic silver and its mode of action. *Appl Microbiol Biotechnol* 84:741-749.
- Solomon, S.D, et al. 2007. Synthesis and study of silver nanoparticles. *Journal of Chemical Education.* 84 (2): 322-325.

- Stacy AK, Robert FR, Gregory RZ. 1998. Optimization of exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* subs. *Appl Environ Microbiol*. 64:659-664.
- Tolaymat T, El Badawy A, Genaidy A, Scheckel K, Luxton T, Suidan M. 2010. An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in syntheses and applications: A systematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers. *Sci. Tot. Environ*. 5: 999-1006.
- Vivak M, Kumar PS, Steffi S, Sudha S. 2011. Biogenic Silver Nanoparticles by *Gelidiella acerosa* Extract and their Antifungal Effects. India: Karpagam University Department of Biotechnology.
- Yuliar. 2003. Peningkatan produksi iturin A sebagai biofungisida dengan menggunakan *Bacillus subtilis* RB14 -CS. *Biodiversitas* 9:99 -104.
- Zhang T, Wang W, Zhang D, Zhang X, Yurong M. 2009. Biotemplated synthesis of gold nanoparticle–bacteria cellulose nanofiber nanocomposites and their application in biosensing. *J Advanced Functional Materials* 20: 1152-1160.

# LAMPIRAN

## Dokumentasi Kegiatan





