

**SINTESIS DAN KARAKTERISASI NANOMATERIAL *CARBON-DOTS* BERBAHAN
DASAR DAUN JERUK NIPIS SEBAGAI ANTIBAKTERI *CLOSTRIDIUM*
BOTULINUM UNTUK INDUSTRI KEMASAN MAKANAN**

***SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF CARBON-DOTS NANOMATERIAL
MADE FROM LIME LEAVES AS CLOSTRIDIUM BOTULINUM ANTIBACTERIAL
FOR THE FOOD PACKAGING INDUSTRY***

Jaynis Dhifa Alviana, Departemen Pendidikan Fisika, Universitas Negeri Yogyakarta,
Indonesia

Wipsar Sunu Brams Dwandaru*, Departemen Pendidikan Fisika, Universitas Negeri
Yogyakarta, Indonesia

Email: wipsarian@uny.ac.id (corresponding author)

Abstrak- Penelitian ini bertujuan untuk (1) mengetahui karakteristik *carbon-dots* berbahan dasar daun jeruk nipis menggunakan metode pemanasan *microwave* berdasarkan uji spektrofotometer *ultraviolet-visible* (UV-Vis), *particle size analyzer* (PSA), dan *X-ray diffraction* (XRD), (2) mengetahui perbedaan daya hambat pertumbuhan bakteri *Clostridium botulinum* menggunakan empat variasi konsentrasi *carbon-dots* berbahan dasar daun jeruk nipis, dan (3) mengetahui konsentrasi yang paling efektif dari *carbon-dots* berbahan dasar daun jeruk nipis terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Clostridium botulinum*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang dimulai dengan melakukan sintesis *carbon-dots* dengan bahan dasar daun jeruk nipis menggunakan metode pemanasan *microwave*. Proses tersebut menghasilkan larutan sampel untuk karakterisasi, yaitu pencampuran 3 tetes *carbon-dots* dengan 10 ml aquades dan larutan sampel untuk dilakukan uji antibakteri, yaitu konsentrasi A (200 ppm), B (500 ppm), C (800 ppm), dan D (1000 ppm). Hasil penelitian menunjukkan bahwa: (1) karakterisasi spektrofotometer UV-Vis memiliki satu puncak absorbansi, yaitu pada panjang gelombang 236 nm, hasil karakterisasi PSA menunjukkan ukuran *carbon-dots* sebesar 176,3 nm dengan distribusi ukurannya berada pada persentase 45,5%, sedangkan karakterisasi XRD menunjukkan bahwa *carbon-dots* daun jeruk nipis yang telah disintesis bersifat *amorf* dan memiliki puncak pada sudut 12° dan 30°; (2) konsentrasi A (200 ppm) memiliki diameter tertinggi sebesar 6,3 nm, konsentrasi B (500 ppm) memiliki diameter tertinggi sebesar 6,5 nm, konsentrasi C (800 ppm) memiliki diameter tertinggi sebesar 6,6 nm, dan konsentrasi D (1000 ppm) memiliki diameter tertinggi sebesar 6,2 nm; dan (3) konsentrasi *carbon-dots* daun jeruk nipis yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Clostridium botulinum* pada penelitian ini, yaitu pada konsentrasi C (800 ppm) yang memiliki diameter tertinggi sebesar 6,6 nm pada masa inkubasi jam ke-6.

Kata kunci: *carbon-dots*, *microwave*, antibakteri, *Clostridium botulinum*

Abstract- This research aims to (1) to determine the characteristics of *carbon-dots* made from lime leaves using the *microwave* heating method based on *ultraviolet-visible* spectrophotometer (UV-Vis), *particle size analyzer* (PSA), and *X-ray diffraction* (XRD) tests, (2) to determine the difference in the growth inhibition of *Clostridium botulinum* bacteria

using four variations in the concentration of carbon-dots made from lime leaves, and (3) to determine the most effective concentration of carbon-dots made from lime leaves against the growth inhibition of *Clostridium botulinum* bacteria. This research is an experimental study that begins with synthesizing carbon-dots with lime leaves as the base material using the microwave heating method. The process produced a sample solution for characterization, namely mixing 3 drops of carbon-dots with 10 ml of distilled water and a sample solution for antibacterial testing, namely concentrations of A (200 ppm), B (500 ppm), C (800 ppm), and D (1000 ppm). The results showed that: (1) UV-Vis spectrophotometer characterization has one absorbance peak, which is at a wavelength of 236 nm, PSA characterization results show the size of carbon-dots of 176.3 nm with a size distribution at a percentage of 45.5%, while XRD characterization shows that the carbon-dots of lime leaves that have been synthesized are amorphous and have peaks at angles of 12° and 30°; (2) concentration A (200 ppm) has the highest diameter of 6.3 mm, concentration B (500 ppm) has the highest diameter of 6.5 mm, concentration C (800 ppm) has the highest diameter of 6.6 mm, and concentration D (1000 ppm) has the highest diameter of 6.2 mm; and (3) the most effective concentration of lime leaf carbon-dots in inhibiting the growth of *Clostridium botulinum* bacteria in this study, namely at a concentration of C (800 ppm) which had the highest diameter of 6.6 mm at the 6th hour incubation period.

Keywords: carbon-dots, microwave, antibacterial, *Clostridium botulinum*

PENDAHULUAN

Industri kemasan makanan merupakan salah satu sektor penting dalam dunia pangan (Insoo *et al.*, 2022). Menurut Kementerian Negara Koperasi Usaha Kecil dan Menengah (dalam Widiati, 2019), kemasan atau *packaging* merupakan ilmu, seni, dan teknologi yang bertujuan untuk melindungi sebuah produk saat akan dikirim, disimpan atau dijual. Beberapa bahan kemasan yang biasa digunakan, yaitu bahan kemasan kaku atau *rigid*, seperti kemasan kayu, logam, metal, besi, kaca, dan botol. Sedangkan, bahan kemasan lentur atau fleksibel biasanya terbuat dari plastik, kertas, *multilayer*, nilon atau *vacuum*, aluminium foil, dan *metalized* (Widiati, 2019). Namun, masalah sanitasi dan keamanan pangan tetap menjadi perhatian utama dalam proses pengemasan makanan. Salah satu tantangan utama dalam industri ini adalah potensi kontaminasi mikroorganisme, mikroba patogen, atau zat kimia beracun. Mikroorganisme pangan dapat berupa virus, bakteri, kapang, dan parasit. Mikroorganisme ada yang membahayakan kesehatan dan ada juga yang tidak membahayakan, tetapi dapat mengakibatkan bahan pangan menjadi busuk (Iswarawanti *et al.*, 2020).

Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) melaporkan bahwa bakteri merupakan penyebab 60-80% kejadian penyakit bawaan pangan di dunia, salah satunya adalah *Clostridium botulinum*. *Clostridium botulinum* merupakan anaerob patogen yang bertahan hidup di lingkungan dan dilaporkan mengkontaminasi pangan olahan kaleng. Bakteri *Clostridium botulinum* sering kali mengakibatkan keracunan makanan serius yang disebut dengan *botulisme* (Iswarawanti *et al.*, 2020). *Botulisme* merupakan penyakit yang dapat berakibat fatal, di mana toksin yang dihasilkan oleh bakteri *Clostridium botulinum* dapat menyebabkan kelumpuhan otot dan gangguan sistem saraf yang parah pada manusia (Tjampakasari & Hanifah, 2022).

Botulisme yang disebabkan oleh bakteri *Clostridium botulinum* dapat terjadi akibat terpapar toksin yang dibentuk melalui penyimpanan makanan yang tidak benar, injeksi iatrogenik, atau bioterorisme, atau akibat pelepasan toksin secara sistemik *in vivo* (Jefferey & Karim, 2021; Tjampakasari & Hanifah, 2022). Oleh karena itu, sebagai upaya dalam mengatasi bakteri *Clostridium botulinum*, perlu dilakukan penanganan dengan memanfaatkan agen antibakteri guna mencegah atau menghambat pertumbuhannya. Dengan kemajuan

teknologi nano, terutama dalam penggunaan nanomaterial seperti *carbon-dots* dalam teknologi kemasan, dapat dijadikan sebagai solusi inovatif untuk melindungi makanan dari risiko kontaminasi bakteri *Clostridium botulinum*, serta memastikan keselamatan dan kualitas produk makanan.

Jeruk nipis dikenal juga dengan nama latin *Citrus aurantifolia*. Tumbuhan ini tersebar luas di wilayah Asia dan Amerika Tengah. Jeruk nipis biasanya dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional, pengawet, dan penambah cita rasa pada makanan (Wardani *et al.*, 2019). Selain itu, jeruk nipis bermanfaat pada bidang kecantikan sebagai pemutih kulit dan menghaluskan wajah. Jeruk nipis juga memiliki manfaat lain sebagai antibakteri, antioksidan, dan antikanker (Ernawati *et al.*, 2023). Bagian-bagian pada jeruk nipis, termasuk daunnya, dapat dimanfaatkan dalam bidang nanomaterial, yaitu sebagai prekursor dalam pembuatan *carbon-dots*.

Sejak diperkenalkan oleh Richard Feynman pada tahun 1959, nanoteknologi telah mengalami perkembangan yang signifikan dalam berbagai bidang ilmu pengetahuan (Bayda *et al.*, 2020). Salah satu pengembangan dari nanoteknologi ini adalah nanopartikel material *carbon-dots* atau C-dots (Anggraini & Dwandaru, 2021). Bahan berukuran nano untuk mengemas bahan pangan dengan sifat yang sesuai menghasilkan kinerja pengemasan yang lebih baik dan umur simpan pangan yang lebih lama (Insoo *et al.*, 2022).

Carbon-dots merupakan partikel berukuran nano, yaitu kurang dari 10 nanometer dan berbahan material karbon (Rahmayanti *et al.*, 2015). *Carbon-dots* mempunyai stabilitas yang tinggi dengan tingkat toksisitas yang rendah, ramah lingkungan, dan memiliki sifat yang unik, yaitu dapat berpendar dan pendarannya dapat diatur. Sintesis *carbon-dots* dilakukan dengan dua metode, yaitu metode *top down* (cara fisika) dan *bottom-up* (cara kimia). Pada metode *top down*, *carbon-dots* disintesis dari material karbon berukuran besar menjadi karbon berukuran nano dan biasanya berasal dari material anorganik. Metode ini dapat dilakukan menggunakan teknik ablasi laser, kimia atau oksidasi elektrokimia (Qurrata *et al.*, 2018). Metode *bottom-up* mensintesis *carbon-dots* yang berbahan organik menggunakan molekul prekursor. Teknik yang digunakan dapat berupa pemanasan sederhana, *supported synthesis*, dan *microwave* (Rahmayanti *et al.*, 2015). Dalam beberapa penelitian terkini, *carbon-dots* telah menunjukkan potensi aktivitas antibakteri melawan berbagai jenis bakteri patogen.

Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian yang berjudul "Sintesis dan Karakterisasi Nanomaterial *Carbon-dots* Berbahan Dasar Daun Jeruk Nipis sebagai Antibakteri *Clostridium botulinum* untuk Industri Kemasan Makanan". Penelitian ini dilakukan menggunakan metode *bottom-up*, yaitu metode pemanasan *microwave*. Lebih jauh peneliti juga melakukan karakterisasi terhadap *carbon-dots* yang dihasilkan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, PSA, dan XRD. Peneliti berharap hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai literatur pembuatan nanomaterial *carbon-dots* sebagai antibakteri dengan metode *microwave* dan ke depannya dapat dikembangkan, serta diaplikasikan pada industri kemasan makanan.

METODE

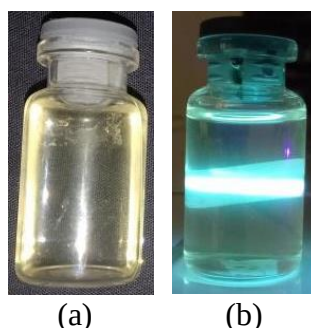
Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2023 sampai dengan bulan Januari 2024. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Nanomaterial, Laboratorium Terpadu, dan Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNY. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi larutan *carbon-dots* yang diujikan untuk daya hambat bakteri, yaitu A (200 ppm), B (500 ppm), C (800 ppm), dan D (1000 ppm). Variabel terikatnya, yaitu zona bening atau daya hambat bakteri. Sedangkan, variabel kontrol meliputi: waktu pemanasan, waktu homogenisasi, lama peremajaan bakteri, diameter kertas cakram, dan suhu ruangan.

Carbon-dots berbahan dasar daun jeruk nipis disintesis menggunakan metode pemanasan *microwave* dan menghasilkan *carbon-dots* berbentuk karamel pada dasar gelas *beaker*.

Selanjutnya, *carbon-dots* dikarakterisasi dengan cara mencampurkan 3 tetes *carbon-dots* dengan 10 ml aquades. Karakterisasi dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, PSA, dan XRD. Selain itu, *carbon-dots* juga diuji daya hambat bakterinya dengan variasi konsentrasi A (200 ppm), B (500 ppm), C (800 ppm), dan D (1000 ppm). Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode difusi cakram (*disc diffusion methods*). Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan mengamati zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Zona bening dinyatakan dengan diameter zona hambat (mm) dengan melakukan perhitungan rata-rata dari diameter yang dihasilkan (horizontal, vertikal, dan diagonal). Pengamatannya dilakukan dalam rentang waktu 3 jam selama 24 jam dengan pengulangan sebanyak 2 kali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

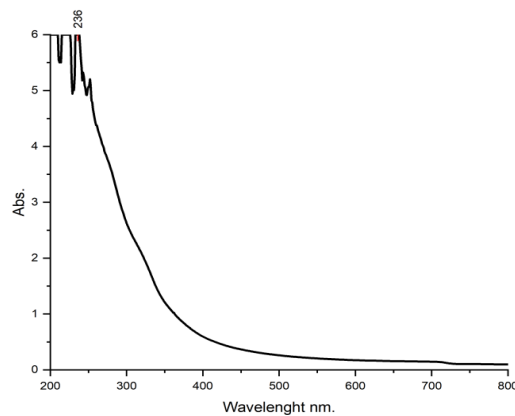
Carbon-dots yang dihasilkan dari proses sintesis ini memiliki bentuk berupa pasta atau karamel, berwarna hitam pekat, dan bertekstur lengket. *Carbon-dots* dalam bentuk karamel diambil sebanyak 3 tetes, kemudian ditambahkan dengan aquades sebanyak 10 ml. Larutan *carbon-dots* yang dihasilkan berwarna kuning kecokelatan [lihat Gambar 1(a)].



Gambar 1. Larutan *carbon-dots* untuk (a) tanpa disinari laser UV, (b) dengan disinari laser UV.

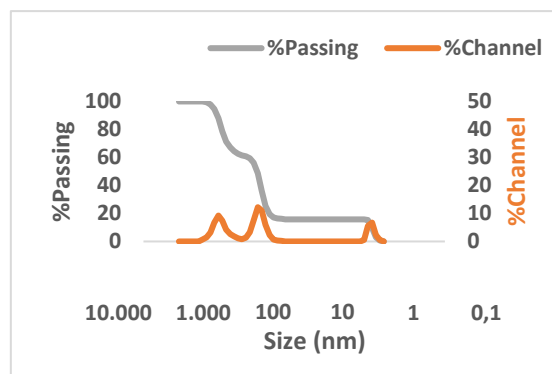
Salah satu metode sederhana yang digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan *carbon-dots* dalam suatu larutan adalah dengan menembakkan laser UV secara langsung pada sampel. Sinar laser UV yang masuk ke dalam sampel akan menghasilkan pendaran warna yang dapat diamati. Pendaran yang diperoleh pada penelitian ini berwarna *light cyan* [lihat Gambar 1(b)]. Warna tersebut berada pada rentang warna hijau-biru yang merupakan salah satu ciri dari *carbon-dots* (Sari *et al.*, 2020).

Carbon-dots yang telah disintesis kemudian dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan diperoleh satu puncak absorbansi, yaitu pada panjang gelombang 236 nm dan absorbansinya 6 (lihat Gambar 2). Selain itu, Gambar 2 juga menampilkan grafik yang terpotong. Hal tersebut dapat terjadi ketika sampel *carbon-dots* yang diujikan terlalu pekat hingga mengakibatkan absorbansinya sangat tinggi dan tidak terdeteksi oleh spektrofotometer UV-Vis. Meskipun begitu, penelitian ini berhasil dilakukan karena dapat menghasilkan puncak absorbansi, yaitu pada panjang gelombang 236 nm, yang menandakan sampel yang diuji mengandung material *carbon-dots*. Hal ini didasarkan pada penelitian sebelumnya yang menghasilkan *carbon-dots* pada panjang gelombang 205,5 nm (Alwaasith & Dwandaru, 2022), 239 nm (Bajpai *et al.*, 2019), 242 nm, dan 268 nm (Dwandaru *et al.*, 2020). Hasil UV-Vis yang diperoleh pada penelitian ini menunjukkan satu puncak absorbansi yang terjadi karena adanya transisi elektronik tunggal, yaitu transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ (*core*). Adanya transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$ ini juga mengindikasikan terbentuknya material *carbon-dots* pada sampel.



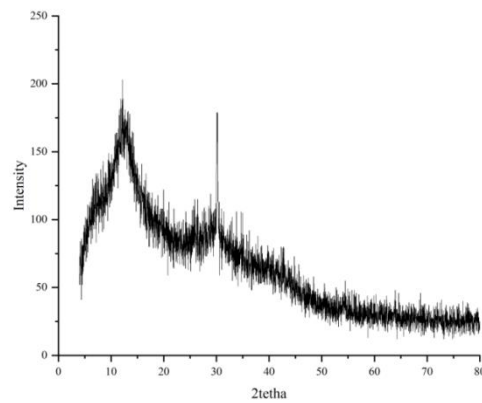
Gambar 2. Grafik hasil uji UV-Vis *carbon-dots* daun jeruk nipis.

Carbon-dots selanjutnya dikarakterisasi menggunakan PSA untuk mengetahui distribusi ukuran partikelnya. Pada Gambar 3 dapat dilihat bahwa ukuran partikel *carbon-dots* yang dihasilkan memiliki sifat heterogen atau tidak homogen dan dapat dilihat juga persentase partikel dengan ukuran tertentu. Didapatkan berbagai ukuran partikel dan distribusinya dalam sampel, yaitu: ukuran 1003 nm sebanyak 39,2%, ukuran 176,3 nm sebanyak 45,5%, dan ukuran 1,3 nm sebanyak 15,3%. Distribusi ukuran partikel yang paling dominan adalah ukuran 176,3 nm sehingga dapat dikatakan bahwa ukuran *carbon-dots* pada penelitian ini adalah 176,3 nm.



Gambar 3. Grafik hasil uji PSA *carbon-dots* daun jeruk nipis.

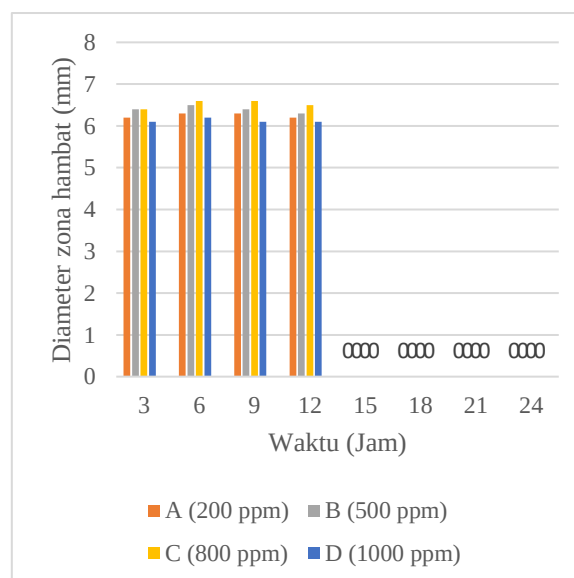
Ukuran partikel *carbon-dots* yang dihasilkan dapat dikatakan memiliki ukuran yang besar, yaitu mencapai 176,3 nm, melebihi ukuran *carbon-dots* yang kurang dari 10 nm. Hal tersebut dapat terjadi karena sampel *carbon-dots* mengalami penggumpalan sehingga pada saat pengujian ukuran partikel yang terbaca berada pada rentang ukuran 1-200 nm. Selain itu, ukuran *carbon-dots* yang besar ini dapat terjadi akibat proses karbonisasi yang kurang sempurna sehingga masih terdapat ukuran partikel yang besar. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang memperoleh ukuran *carbon-dots* sebesar 170,5 nm (Damayanti, 2023) dan 365 nm (Yoanto & Dwandaru, 2022). Hasil yang diperoleh ini kemungkinan merupakan kumpulan atau bongkahan dari *carbon-dots*.



Gambar 4. Grafik hasil uji XRD *carbon-dots* daun jeruk nipis.

Karakterisasi XRD digunakan dengan tujuan untuk mengidentifikasi tingkat kristalinitas suatu material. Sumber yang digunakan pada pengujian XRD adalah sinar Cu- α dengan panjang gelombang sebesar 0,15418 Å, serta berada pada rentang 4° hingga 80°. Berdasarkan grafik yang ditampilkan pada Gambar 4, dapat diketahui bahwa struktur kristal dari *carbon-dots* yang disintesis dari daun jeruk nipis bersifat *amorf*. Sifat *amorf* terlihat dari ketidakteraturan struktur, yaitu tidak terdapat puncak yang spesifik pada hasil difraksi pada sudut-sudut tertentu atau dapat dikatakan memiliki sifat *amorf* karena puncak yang dihasilkan melebar. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa jarak antar atom tidak menunjukkan pola yang jelas serta susunan atom cenderung acak.

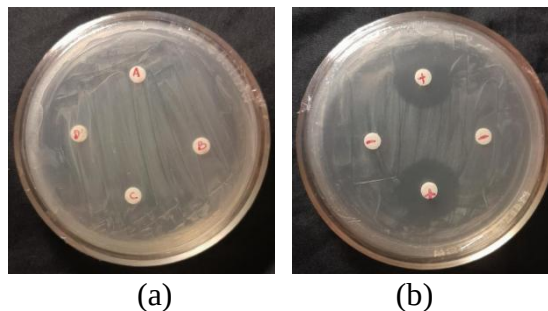
Grafik yang dihasilkan pada uji XRD menunjukkan dua puncak difraksi, yaitu pada sudut 12° dan 30°. Hasil tersebut seperti halnya pada penelitian sebelumnya yang menunjukkan puncak difraksi dalam rentang sudut 10° hingga 35° (Dwandaru *et al.*, 2020). Adanya dua puncak dalam karakterisasi XRD dari *carbon-dots* yang dihasilkan pada penelitian ini dapat dikaitkan dengan sifat strukturalnya yang dikenal memiliki struktur yang kompleks. Puncak-puncak ini dapat terjadi akibat adanya fase kristal yang berbeda, seperti karbon grafit dan *amorf*, atau karena adanya gugus fungsional dan heteroatom dalam struktur *carbon-dots* (Mintz *et al.*, 2020). Proses karbonisasi yang kurang optimal saat pembentukan *carbon-dots* juga dapat menyebabkan variasi struktur yang menghasilkan dua puncak atau lebih pada hasil uji XRD.



Gambar 5. Diameter zona hambat sampel *carbon-dots* daun jeruk nipis.

Pengujian antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Berdasarkan data yang diperoleh dari penelitian pada Gambar 5, setiap sampel *carbon-dots* menunjukkan aktivitas antibakteri. Peningkatan ukuran diameter zona hambat terjadi mulai dari 3 jam pertama setelah masa inkubasi dan bertahan hingga jam ke-12. Namun, diameter yang diperoleh cenderung memiliki nilai yang stabil atau tidak mengalami perubahan yang signifikan.

Hasil pengujian antibakteri di atas, mengindikasikan bahwa sampel *carbon-dots* daun jeruk nipis dengan konsentrasi C (800 ppm) memiliki kemampuan yang lebih tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Clostridium botulinum* dibandingkan dengan sampel konsentrasi A (200 ppm), B (500 ppm), dan D (1000 ppm). Selain itu, tingkat resistansi antibakteri pada semua sampel *carbon-dots* maksimal terjadi pada jam ke-6, yaitu konsentrasi A (200 ppm) memiliki diameter tertinggi sebesar 6,3 mm, konsentrasi B (500 ppm) memiliki diameter tertinggi sebesar 6,5 mm, konsentrasi C (800 ppm) memiliki diameter tertinggi sebesar 6,6 mm, dan konsentrasi D (1000 ppm) memiliki diameter tertinggi sebesar 6,2 mm. Setelah jam ke-6 masa inkubasi, diameter zona hambat relatif turun kembali dan mulai tidak berpengaruh pada jam ke-15 hingga jam ke-24. Aktivitas antibakteri berdasarkan zona hambat atau bening dapat diamati pada Gambar 6.



Gambar 6. Aktivitas antibakteri *Clostridium botulinum* masa inkubasi jam ke-6 untuk (a) konsentrasi *carbon-dots* daun jeruk nipis, (b) kontrol positif dan negatif.

Konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Clostridium botulinum* bukan merupakan konsentrasi tertinggi (D (1000 ppm)), melainkan konsentrasi C (800 ppm). Hal ini dapat terjadi karena konsentrasi senyawa antibakteri yang berpotensi sebagai antibakteri sudah cukup untuk menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi C (800 ppm) dan konsentrasi yang lebih tinggi tidak akan memberikan efek yang lebih baik. Konsentrasi tertinggi ataupun kenaikan konsentrasi tidak selalu berbanding lurus dengan tingkat efektivitasnya. Kemungkinan hasil tersebut dapat dipengaruhi oleh kandungan zat penting dalam daun jeruk nipis, faktor lingkungan, dan suhu (Chairunisa *et al.*, 2022). Selain itu, *Clostridium botulinum* mempunyai sifat yang unik, yaitu dapat membentuk spora yang tahan terhadap panas, bersifat anaerobik, dan tumbuh pada pH lebih dari 4,6 atau yang memiliki kondisi tidak terlalu asam (Rorong & Wilar, 2020). Sifatnya yang unik ini memungkinkan sampel *carbon-dots* daun jeruk nipis yang diujikan pada bakteri *Clostridium botulinum* hanya bersifat sebagai bakteriostatik karena hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri, tidak dapat membunuh bakteri tersebut.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka didapatkan beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Karakterisasi UV-Vis menunjukkan satu puncak absorbansi, yaitu pada panjang gelombang 236 nm. Hasil karakterisasi menggunakan PSA menunjukkan ukuran

- carbon-dots* sebesar 176,3 nm dengan distribusi ukurannya berada pada persentase 45,5%. Karakterisasi XRD menunjukkan bahwa *carbon-dots* daun jeruk nipis yang telah disintesis memiliki struktur *amorf* dan memiliki puncak pada sudut 12° dan 30°.
2. Konsentrasi A (200 ppm) memiliki diameter tertinggi sebesar 6,3 mm, konsentrasi B (500 ppm) memiliki diameter tertinggi sebesar 6,5 mm, konsentrasi C (800 ppm) memiliki diameter tertinggi sebesar 6,6 mm, dan konsentrasi D (1000 ppm) memiliki diameter tertinggi sebesar 6,2 mm.
 3. Konsentrasi *carbon-dots* daun jeruk nipis yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Clostridium botulinum* pada penelitian ini, yaitu konsentrasi C (800 ppm) yang memiliki diameter tertinggi sebesar 6,6 mm pada masa inkubasi jam ke-6.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing, ketua, dan asisten Laboratorium Marerial dan Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNY.

DAFTAR PUSTAKA

- Alwaasith, G.R., & Wipsar, S.B.D. (2022) Sintesis dan Karakterisasi Carbon Nanodots Berbahan Dasar Limbah Daun Kering sebagai Zat Aditif pada Cat Tembok. *Jurnal Ilmu Fisika dan Terapannya*, 9(1), 31-36.
- Anggraini, G.A., & Wipsar, S.B.D. (2021). Sintesis dan Karakterisasi Nanomaterial Carbon Dots Berbahan Dasar Daun Kemangi Menggunakan Pemanasan Presto. *Jurnal Ilmu Fisika dan Terapannya*, 8(1), 36-42.
- Bajpai, S.K., D'Souza, A., Suhali, B. (2019). Carbon Dots from Guar Gum: Synthesis, Characterization and Preliminary In Vivo Application in Plant Cells. *Materials Science & Engineering B*, 241, 92-99.
- Bayda, S., Muhammad, A., Tiziano, T., *et al.* (2020). The History of Nanoscience and Nanotechnology: from Chemical-Physical Applications to Nanomedicine. *Molecules*, 25(1), 112-137.
- Chairunisa, F., Mega, S., & Maria, B. (2022). Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Red Betel Leaves (*Piper crocatum*) and Its Fractions against *Escherichia coli* pBR322. *Current Biochemistry*, 9(1), 1-15.
- Damayanti, I. (2023). *Sintesis dan Karakterisasi Nanomaterial Carbon-Dots Berbahan Dasar Kulit Pisang Kepok sebagai Antibakteri Staphylococcus epidermidis*. Skripsi: Universitas Negeri Yogyakarta.
- Dwandaru, W.S.B., Fadli, A.L., Sari, E.K., *et al.* (2020). Cdots and Cdots/s Synthetis from Nam-Nam Fruit (*Cynometra Cauliflora* L.) via Frying Method Using Cooking Oil. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 15(2), 555-560.
- Ernawati, Suharjon, Weni, F., *et al.* (2023). *Budidaya Jeruk Nipis Citrus aurantifolia*. Jakarta Selatan: Pertanian Press.
- Insoo, K., Kartika, V., Gopinath, K., *et al.* (2022). ZnO Nanostructures in Active Antibacterial Food Packaging: Preparation Methods, Antimicrobial Mechanisms, Safety Issues, Future Prospects, and Challenges. *Food Review International*, 38(4), 537-565.

- Iswarawanti, D.N., Evi, E., Arienta, S., *et al.* (2020). *Keamanan Pangan dan Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP)*. Jakarta: Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia.
- Mintz, K.J., Mattia, B., Massimo, R., *et al.* (2020). A Deep Investigation into the Structure of Carbon Dots. *CARBON*, 173, 1-40.
- Qurrata, A., Isnaeni, D, Tahir., *et al.* (2018). Perbandingan Sifat Optik Karbon Dots (C-Dots) dari Daun Mangga Kering dan Segar. *Prosiding Seminar Nasional Quantum*: 626-631, Tangerang Selatan, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI).
- Rahmayanti, H.D., Mahardika, P.A., & Sulhadi. (2015) Sintesis Carbon Nanodots Sulfur (C-Dots Sulfur) dengan Metode Microwave. *Unnes Physics Journal*, 4(1), 1-8.
- Rorong, J.A., & Wiesje, F.W. (2020). Keracunan Makanan oleh Mikroba. *Techno Science Journal*, 2(2), 47-60.
- Sari, E.K., Danvi, S., Athi, N.A.R., *et al.* (2020). Nanomaterial Carbon-Dots Berbahan Dasar Daun Sirih (Piper betle L.) sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *S. mutans* dan *E. coli*. *POSITRON*, 10(2), 105-112.
- Tjampakasari, C.R., & Rifdah, H. (2022). Bakteri Anaerob Clostridium botulinum dan Toksin yang Dihasilkannya. *Cermin Dunia Kedokteran*, 49(5), 260–264.
- Wardani, R., Dwi, S.D.J., & Prapti, S. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Jeruk Nipis (Citrus Aurantifolia Swingle) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Isolat Klinis. *Jurnal Penelitian Pendidikan Ipa (JPPIPA)*, 5(1), 10-17.
- Widiati, A. (2019). Peranan Kemasan (Packaging) dalam Meningkatkan Pemasaran Produk Usaha Mikro Kecil Menengah (Umk) di “Mas Pack” Terminal Kemasan Pontianak. *Jurnal Audit dan Akuntansi Fakultas Ekonomi dan Bisnis Universitas Tanjungpura*, 8(2), 67-76.
- Yoanto, D.S., & Wipsar, S.B.D. (2022). Preparasi dan Karakterisasi Carbon Nanodots Berbahan Dasar Limbah Daun Kering sebagai Zat Aditif pada Pembuatan Cat Akrilik. *Jurnal Ilmu Fisika dan Terapannya*, 9(1), 48-53.