



**SINTESIS ANTIBAKTERI NANOPARTIKEL PERAK
MENGUNAKAN BIOREDUKTOR EKSTRAK DAUN
SIRIH (*Piper Betle Linn*) DENGAN IRRADIASI
MICROWAVE**

Skripsi

disajikan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Kimia

oleh

Margareta Dian Purnamasari

4311411047

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2015**

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa yang tertulis dalam Skripsi ini bebas plagiat, dan apabila di kemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam skripsi, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan.

Semarang, September 2015



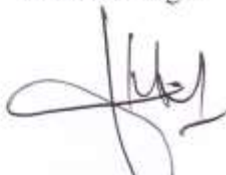
Margareta Dian Purnamasari
4311411047

PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi ini telah disetujui oleh pembimbing untuk diajukan ke Sidang Panitia Ujian Skripsi Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang.

Semarang, September 2015

Pembimbing I



Harjono, S.Pd., M.Si
NIP. 19771116200501101

Pembimbing II



Dr. Nanik Wijayati M.Si
NIP.196910231996032002

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

**Sintesis Antibakteri Nanopartikel Perak menggunakan Bioreduktor
Ekstrak Daun Sirih (Piper betle linn.) dengan Irradiasi Microwave**

disusun oleh :

Margareta Dian Purnamasari

4311409048

telah dipertahankan dihadapan Sidang Panitia Ujian Skripsi FMIPA Universitas

Negeri Semarang pada tanggal :

Panitia Ujian:



Ketua
Prof.Dr.Wiyanto.M.Si.

NIP.196310121988031001

Sekretaris

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Woro Sumarni'.

Dra. Woro Sumarni, M.Si

NIP. 196507231993032001

Ketua Penguji

A large, stylized handwritten signature in black ink, likely belonging to Prof. Dr. Edy Cahyono.

Prof.Dr.Edy Cahyono,M.Si

NIP. 196412051990021001

Anggota Penguji/
Pembimbing utama

A handwritten signature in black ink, likely belonging to Harjono.

Harjono,S.Pd.,M.Si

NIP. 19771116200501101

Anggota Penguji/
Pembimbing pendamping

A handwritten signature in black ink, likely belonging to Dr. Nanik Wijayati.

Dr. Nanik Wijayati, M.Si

NIP.196910231996032002

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO:

- Setiap hari dalam segala cara, saya menjadi semakin baik dan semakin baik.
–Emile Coue
- Dalam tiap jerih payah ada keuntungan. -Amsal 14:23
- Dan apa saja yang kamu minta dalam doa dengan penuh kepercayaan, kamu akan menerimanya. –Matius 21:22
- Kasihilah sesamamu manusia seperti dirimu sendiri. –Matius 22:39

Persembahan :

Untuk orangtua saya atas segala doa dan pengorbanannya selama ini

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan kasih dan kemurahan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul ***”Sintesis Antibakteri Nanopartikel Perak menggunakan Bioreduktor Ekstrak Daun Sirih (Piper betle linn) dengan Irradiasi Microwave”***. Selama menyusun skripsi ini, penulis telah banyak menerima bantuan, kerjasama, dan sumbangan pemikiran dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis sampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
2. Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
3. Ketua Prodi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
4. Bapak Harjono,S.Pd.,M.Si sebagai Pembimbing I yang telah memberikan petunjuk, arahan, dan bimbingan dalam penyusunan skripsi ini.
5. Ibu Dr.Nanik Wijayati,M.Si sebagai Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan masukan dalam penyusunan skripsi ini.
6. Bapak Prof.Dr.Edy Cahyono,M.Si sebagai penguji yang telah memberi saran kepada penulis, sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
7. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia yang telah memberikan bekal dalam penyusunan skripsi.

8. Kepala Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam beserta seluruh teknisi dan staf.
9. Kedua orang tua, Mas Tio, Mbak Dila, Mas Guntur serta sahabat-sahabat kimia unnes dan ukkk unnes yang telah memotivasi dalam menyelesaikan skripsi ini.
10. Semua pihak yang membantu dalam penyelesaian skripsi ini.
Semoga tugas akhir skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan semua pihak yang membutuhkan.

Semarang, September 2015

ABSTRAK

Purnamasari, Margareta Dian. 2015. *Sintesis Antibakteri Nanopartikel Perak dengan Bioreduktor Ekstrak Daun Sirih (Piper betle linn) menggunakan Irradiasi Microwave*. Skripsi, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Utama Harjono,S.Pd.,M.Si dan Pembimbing Pendamping Dr.Nanik Wijayati,M.Si.

Kata kunci: nanopartikel perak, daun sirih, bioreduktor, antibakteri

Senyawa fenolik yang terkandung dalam tanaman mempunyai sifat antioksidan yang dapat mereduksi ukuran partikel perak menjadi ukuran nano. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh konsentrasi AgNO_3 dan waktu sintesis terhadap ukuran nanopartikel perak, mengetahui karakteristik nanopartikel perak dan mengetahui aktivitas antibakteri nanopartikel perak yang disintesis dengan bioreduktor ekstrak daun sirih. Nanopartikel perak disintesis menggunakan metode *green synthesis*, dengan cara mereduksi AgNO_3 dengan bioreduktor dalam irradiasi *microwave*. Sintesis dilakukan dengan variasi konsentrasi AgNO_3 sebagai prekursor yaitu 0,5 mM, 1 mM, dan 1,5 mM dan variasi waktu sintesis yaitu 140 detik, 160 detik, 180 detik, 200 detik, dan 220 detik. Hasil sintesis koloid nanopartikel perak dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis, PSA dan TEM. Kondisi optimal sintesis nanopartikel perak dengan λ_{max} 415 nm diperoleh dengan konsentrasi AgNO_3 0,5 mM dan waktu sintesis 200 detik. Semakin besar konsentrasi AgNO_3 menghasilkan ukuran nanopartikel perak yang lebih besar dan heterogen. Nanopartikel mengalami nukleasi optimal dan menghasilkan ukuran partikel yang paling kecil pada waktu sintesis 200 detik. Nanopartikel perak optimal yang dikarakterisasi dengan TEM berbentuk sferik kristalin dengan ukuran mencapai 11,94 nm dan rata-rata ukuran partikel 37,44 nm dengan struktur *Face Centered Cubic (FCC)*. Nanopartikel yang paling stabil diperoleh dengan konsentrasi AgNO_3 1 mM. Nanopartikel perak mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif lebih kuat daripada bakteri Gram negatif. Peningkatan konsentrasi AgNO_3 pada nanopartikel perak menunjukkan daya hambat bakteri yang semakin menurun.

ABSTRACT

Purnamasari, Margareta Dian. 2015. *Synthesis of Antibacterial Silver Nanoparticles with Bio-reductor Betel Leaf Extract (Piper betle Linn) using Microwave Irradiation*. Thesis, Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, State University of Semarang. Main supervisor Harjono, S.Pd.,M.Si and Supervising Companion Dr.Nanik Wijayati, M.Si.

Keywords: silver nanoparticles, betel leaves, bioreductant, antibacterial

Phenolic compound contained in the plant have antioxidant characteristic that can reduce the particle size of silver into nano size. The purpose of this study was to determine the effect of the concentration of AgNO_3 and synthesis time of the particle size of silver nanoparticles, investigate the characteristics of silver nanoparticles and determine the antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized by betel leaf extract bioreductant. Silver nanoparticles have been synthesized using green synthesis method, by reducing AgNO_3 with bioreductant in the microwave irradiation. Bioreductant prepared by soxhletation. Synthesis is done by varying the concentration of AgNO_3 as a precursor of 0.5 mM, 1 mM, and 1.5 mM and variations in synthesis time are 140 seconds, 160 seconds, 180 seconds, 200 seconds and 220 seconds. The results of the synthesis of colloidal silver nanoparticles were characterized using UV-Vis spectrophotometer, PSA and TEM. Optimal conditions of synthesis of silver nanoparticles with λ_{max} 415 nm is obtained with a concentration of 0.5 mM AgNO_3 and synthesis time of 200 seconds. The greater the concentration of AgNO_3 produce silver nanoparticles size larger and heterogeneous. Nanoparticles undergo optimal nucleation and produce the smallest particle size in the synthesis time of 200 seconds. Optimal silver nanoparticles were characterized by TEM showed crystalline spherical shape with the size reached 11.94 nm and an average particle size of 37.44 nm with Face Centered Cubic (FCC) structure. The most stable nanoparticles obtained with a concentration of 1 mM AgNO_3 . Silver nanoparticles are able to inhibit the growth of Gram-positive bacteria are stronger than Gram-negative bacteria. Increasing concentrations of AgNO_3 on silver nanoparticles showed inhibition of bacteria decreases.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	ii
PERSETUJUAN PEMBIMBING.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	v
PRAKATA.....	vi
ABSTRAK.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Sifat dan Pemanfaatan Nanopartikel Perak.....	6
2.1.1 Sifat Nanopartikel Perak.....	6
2.1.2 Pemanfaatan Nanopartikel Perak.....	8
2.2 Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Perak.....	9

2.3 Sintesis dan Karakterisasi Nanopartikel Perak.....	10
2.3.1 Sintesis Nanopartikel Perak.....	10
2.3.2 Sintesis Nanopartikel Perak dengan Irradiasi <i>Microwave</i>	11
2.3.3 Karakterisasi Nanopartikel Perak.....	13
2.4 <i>Green Synthesis</i> Nanopartikel Perak.....	17
2.4.1 Sintesis Nanopartikel Perak menggunakan Bioreduktor Ekstrak Tanaman.....	17
2.5 Penelitian Terkait.....	22
BAB 3 METODE PENELITIAN.....	24
3.1 Lokasi Penelitian.....	24
3.2 Variabel Penelitian.....	24
3.2.1 Variabel Bebas.....	24
3.2.2 Variabel Terikat.....	24
3.2.3 Variabel Kontrol.....	24
3.3 Alat dan Bahan.....	25
3.3.1 Alat.....	25
3.3.2 Bahan.....	25
3.4 Cara Kerja.....	25
3.4.1 Preparasi Bioreduktor Ekstrak Daun Sirih.....	25
3.4.2 Sintesis dan Karakterisasi Nanopartikel Perak.....	26
3.4.3 Uji Kestabilan Nanopartikel Perak menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.....	28
3.4.4 Uji Antibakteri.....	28

3.5 Analisis Data.....	30
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
4.1 Preparasi Bioreduktor.....	31
4.2 Sintesis dan Karakterisasi Nanopartikel Perak.....	33
4.2.1 Sintesis Nanopartikel Perak.....	33
4.2.2 Karakterisasi Nanopartikel Perak dengan TEM.....	43
4.3 Pengamatan Kestabilan Nanopartikel Perak.....	45
4.4 Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Perak.....	48
BAB 5 SIMPULAN DAN SARAN.....	52
5.1 Simpulan.....	52
5.2 Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA.....	54
LAMPIRAN.....	62

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hubungan konsentrasi AgNO ₃ terhadap λ_{\max} dan absorbansi....	37
Tabel 4.2 Ukuran nanopartikel perak dengan variasi konsentrasi AgNO ₃ .	38
Tabel 4.3 Hubungan waktu sintesis terhadap λ_{\max} dan absorbansi.....	40
Tabel 4.4 Ukuran nanopartikel perak dengan variasi waktu sintesis.....	42
Tabel 4.5 Analisis teoritik difraksi nanopartikel perak.....	45
Tabel 4.5 Perbandingan d hasil penelitian dengan d pada JCPDS Ag.....	45
Tabel 4.6 Lebar zona bening yang ditimbulkan senyawa uji terhadap pertumbuhan bakteri.....	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Perbedaan mekanisme pada metode konvensional dan microwave.....	12
Gambar 2.2 Spektra ekstingsi nanopartikel perak dengan rentang antara 10- 100 nm.....	15
Gambar 2.3 Daun sirih hijau.....	21
Gambar 4.1 Ekstrak daun sirih dengan 25% etanol.....	32
Gambar 4.2 Pengamatan visual pada proses sintesis nanopartikel perak.....	33
Gambar 4.6 Pengamatan nanopartikel perak variasi konsentrasi AgNO_3 ..	35
Gambar 4.7 Spektrum UV-Vis nanopartikel perak variasi konsentrasi AgNO_3	35
Gambar 4.8 Kurva hubungan antara λ_{max} dan absorbansi terhadap konsentrasi AgNO_3	37
Gambar 4.9 Kurva hubungan ukuran partikel terhadap konsentrasi AgNO_3	38
Gambar 4.10 Pengamatan nanopartikel perak variasi waktu sintesis.....	40
Gambar 4.11 Spektrum UV-Vis nanopartikel perak variasi waktu sintesis	40
Gambar 4.12 Kurva hubungan antara λ_{max} dan absorbansi terhadap waktu sintesis.....	41
Gambar 4.13 Kurva hubungan ukuran partikel terhadap waktu sintesis....	42
Gambar 4.14 Hasil analisa nanopartikel perak menggunakan TEM.....	43
Gambar 4.13 Pola SAED nanopartikel perak	44

Gambar 4.14 Spektrum UV-Vis pengamatan kestabilan pada variasi AgNO ₃	46
Gambar 4.15 Ilustrasi pembentukan nanopartikel perak.....	48
Gambar 4.16 Uji aktivitas antibakteri nanopartikel perak.....	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Skema Kerja Preparasi Bioreduktor Daun Sirih.....	62
Lampiran 2 Skema Kerja Sintesis dan Karakterisasi Nanopartikel Perak...	64
Lampiran 3 Skema Kerja Pengujian Antibakteri.....	64
Lampiran 4 Perhitungan- perhitungan.....	67
Lampiran 5 Hasil Sintesis Nanopartikel Perak.....	68
Lampiran 6 Hasil karakterisasi Spektrofotometer UV-Vis.....	69
Lampiran 7 Hasil karakterisasi PSA.....	72
Lampiran 8 Gambar Penampakan Hasil Karakterisasi TEM.....	73
Lampiran 9 Pengukuran nanopartikel perak dengan TEM menggunakan Image J.....	74
Lampiran 10 JCPDS Ag.....	75
Lampiran 11 Pengukuran Kestabilan dengan Spektrofotometer UV-Vis...	76
Lampiran 12 Gambar hasil pengujian antibakteri.....	79
Lampiran 13 Dokumentasi penelitian.....	79

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nanoteknologi mengacu secara luas pada aplikasi bidang sains dan teknologi dengan tema kendali tingkat molekul dalam skala kecil 1 μm , normalnya 1-100 nm. Nanoteknologi digunakan pada berbagai bidang seperti ilmu farmasi, sains, aplikasi fisika, material dan koloidal, kimia supramolekular, serta teknik mesin dan teknik listrik. Nanoteknologi dapat dilihat sebagai perluasan sains ke dalam skala nano. Nanoteknologi meliputi proses, pemisahan, perubahan bentuk dari material oleh satu atom atau satu molekul (Elumalai *et al.*, 2011). Nanopartikel logam, seperti emas, perak, besi, zinc, dan logam oksida memiliki peluang besar dalam aplikasi biomedis karena luas permukaan yang besar dan rasio volumenya (Prasad *et al.*, 2013).

Nanopartikel perak banyak digunakan pada perawatan luka, kateter, dan berbagai produk rumah tangga karena memiliki sifat antibakteri. Sifat antibakteri perak telah digunakan pada awal 1000 SM untuk menjaga air tetap aman. Akhir-akhir ini diketahui aktivitas antibakteri dari perak dengan melepaskan ion Ag^+ . Perak terhubung dengan struktur protein dan mencegah ikatan dengan DNA untuk menghambat replikasi. Selanjutnya efek antibakteri dari perak dengan menginaktivasi enzim fosfomannoseisomerase (Prasad *et al.*, 2013).

Nanopartikel perak dapat disintesis dengan metode fisika, kimia dan biologi. Meskipun metode fisika dan kimia menghasilkan partikel yang murni, namun metode tersebut mahal dan tidak ramah lingkungan. Sehingga metode biologi dipilih dengan menggunakan reduktor ekstrak tanaman (Renugadevi dan Aswini, 2012). Dalam penelitian ini mensintesis nanopartikel perak dengan reduktor ekstrak daun sirih menggunakan irradiasi *microwave* dan uji aktivitas antibakteri melawan bakteri Gram positif dan negatif.

Telah lama diketahui bahwa tanaman dapat mereduksi ion logam. Tanaman mengandung senyawa fenolik dari berbagai macam metabolit sekunder. Senyawa fenolik memiliki karakteristik yaitu paling sedikit terdapat satu cincin aromatik (C6) dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Senyawa fenolik memiliki sifat antioksidan karena memiliki kecenderungan yang kuat dalam mereduksi logam. Kemampuan mengkelat dan mereduksi logam dari senyawa fenolik karena memiliki karakter nukleofilik tinggi dari cincin aromatik (Michalak, 2006). Reduksi nanopartikel perak melalui oksidasi senyawa fenolik ekstrak tanaman. Atom Ag(0) berkorelasi satu sama lain membentuk nanopartikel perak dan distabilkan oleh turunan fenolik dan ligan lain yang terdapat pada tanaman (Majumdar *et al.*, 2013).

Sirih (*Piper betle linn.*) berkembang di India, Sri Lanka, Malaysia, Indonesia, Filipina dan Afrika Timur. Sirih mengandung senyawa antioksidan dalam jumlah yang besar (Nordin *et al.*, 2014). Senyawa fenolik yang banyak dalam daun sirih merupakan senyawa fenolik yang mengandung cincin aromatik monosiklik dengan gugus alkohol,aldehid atau karboksil (Pin *et al.*, 2010).

Penggunaan sokletasi dalam ekstraksi tanaman dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi (Brewer, 2011). Banyak penelitian menyebutkan bahwa pelarut polar menghasilkan konsentrasi fenolik yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut non polar. Penggunaan pelarut alkohol absolut dapat menurunkan hasil ekstraksi sehingga kombinasi air dengan alkohol membuat ekstraksi optimal, luas permukaan yang berhubungan antara matriks tanaman dengan pelarut meningkatkan hasil ekstraksi (Bandar *et al.*, 2013). Senyawa fitokimia dalam daun sirih kebanyakan bersifat polar dan larut dalam air. Komponen fenolik terbesar dalam daun sirih yaitu hidrosikavikol memiliki dua gugus hidroksil yang lebih larut dalam pelarut polar (Pin *et al.*, 2010). Etanol merupakan pelarut yang baik dan aman untuk ekstraksi polifenol. Penambahan air dengan etanol meningkatkan laju ekstraksi (Shi *et al.*, 2005).

Sintesis nanopartikel perak dengan reduktor ekstrak daun Strawberi telah dilakukan oleh Naik *et al.*, (2013), dengan reduktor ekstrak bunga *Datura metel* telah dilakukan oleh Nethradevi *et al.*, (2012) , dengan reduktor ekstrak daun *Azadirachta indica* telah dilakukan oleh Renugadevi dan Aswini (2012) dan dengan reduktor ekstrak daun *Stigmaphyllon littorale* telah dilakukan oleh Kudle *et al.*, (2013). Penelitian ini menggunakan irradiasi *microwave* untuk membantu proses sintesis. Iradiasi *microwave* mempercepat waktu reaksi dan meningkatkan hasil tanpa menyebabkan perubahan berarti dalam reaksi kimia. Iradiasi *microwave* memiliki keuntungan yaitu pemanasan homogen yang dapat berpengaruh secara langsung pada proses nukleasi sintesis nanopartikel perak (Punuri *et al.*, 2012).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi AgNO_3 dan waktu sintesis terhadap ukuran partikel menggunakan bioreduktor ekstrak kasar daun sirih?
2. Bagaimana karakteristik nanopartikel perak yang disintesis dengan bioreduktor ekstrak kasar daun sirih menggunakan irradiasi microwave?
3. Bagaimana aktivitas antibakteri nanopartikel perak yang disintesis dengan bioreduktor ekstrak daun sirih ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi perak nitrat dan waktu sintesis terhadap ukuran partikel menggunakan bioreduktor ekstrak kasar daun sirih.
2. Mengetahui karakteristik nanopartikel perak yang disintesis dengan bioreduktor ekstrak kasar daun sirih dengan irradiasi microwave.
3. Mengetahui aktivitas antibakteri nanopartikel perak yang disintesis dengan bioreduktor ekstrak daun sirih.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang ingin dicapai pada penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi tentang pengaruh konsentrasi perak nitrat dan waktu sintesis terhadap ukuran partikel menggunakan bioreduktor ekstrak kasar daun sirih.

2. Memberikan informasi tentang karakteristik nanopartikel perak yang disintesis dengan bioreduktor ekstrak kasar daun sirih dengan irradiasi microwave.
3. Memberikan informasi tentang aktivitas antibakteri nanopartikel perak yang disintesis dengan bioreduktor ekstrak daun sirih

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sifat dan Pemanfaatan Nanopartikel Perak

2.1.1 Sifat Nanopartikel Perak

Struktur nanomaterial memiliki sifat fisik dan sifat kimia yang unik karena ukurannya yang kecil. Sifat tersebut berbeda dengan material berukuran makro. Terdapat beberapa penelitian untuk menguji sifat fotofisika dari struktur berdimensi rendah, seperti titik kuantum, nanopartikel, nanowire, nanotube, dan struktur nano. Diantara itu, struktur nano logam melekat dalam matrik dielektrik transparan yang menjadi perhatian karena sifat fotoabsorpsi selektif, peningkatan fotoluminesen, nonlinear yang mengelilingi resonansi plasma dan respon ultra cepat (Lee dan Lee, 2008). Nanopartikel merupakan dispersi partikulat dengan ukuran 10-100 nm. Nanopartikel perak dapat larut dalam lingkungan cair yang mencegah aglomerasi atau terjerap dalam matriks yang digunakan sebagai sistem pembawa obat (misalnya obat terlarut, terjerap, terkapsul atau melekat pada matriks nanopartikel). Partikel tersebut menarik untuk penelitian karena efektivitas dalam dosis kecil, toksisitas dan efek samping kecil.

Ukuran partikel dan distribusinya merupakan karakteristik penting dari sistem nanopartikel. Hal tersebut ditentukan dalam distribusi in vivo, biologis, toksisitas, dan kemampuan target sistem nanopartikel. Disamping keuntungan tersebut, nanopartikel memiliki keterbatasan. Sebagai contoh, ukurannya yang

kecil dan luas permukaan yang besar dapat menyebabkan partikel-partikel teraglomerasi, membuat penanganan fisik nanopartikel sulit dilakukan dalam bentuk kering dan larutan. Aglomerasi tersebut menyebabkan nanopartikel kehilangan sifat yang berhubungan dengan ukuran nano. Tingkat aglomerasi nanopartikel merupakan parameter penting dalam penelitian toksikologi (Lee dan Lee, 2008). Ukuran sangat kecil dari nanopartikel memiliki luas permukaan relatif dengan volumenya. Hal ini telah diketahui bahwa ketika disintesis pada skala nano, aktivitas optik dan intensitas fluoresensi meningkat (Singh *et al.*, 2013).

Nanopartikel perak dapat menyerap dan menyebarkan sinar secara efisien. Fenomena interaksi kuat dengan sinar disebut *Surface Plasmon Resonance* dalam ikatan konduksi elektron secara kolektif dengan sinar dengan panjang gelombang yang spesifik. Deteksi molekul biologis tunggal membutuhkan sampel terang dengan sinar intens. Hal ini meningkatkan *photobleaching*. Sifat penyebaran sinar kuat nanopartikel perak menurunkan intensitas eksitasi dan waktu fluoresensi, yang mengurangi *photobleaching* secara signifikan. Sifat optis tersebut dikembangkan pada skala aplikasi analitis seperti biolabeling, fluoresensi, dan biosensor (Singh *et al.*, 2013).

Nanopartikel logam memiliki sifat optis dan elektronis yang tidak ditemukan pada ukuran makro. Hanya elektron-elektron dengan elektron bebas (seperti Au, Ag, Cu dan logam alkali) yang memiliki Resonansi Plasmon pada spektrum cahaya tampak yang dapat memberikan warna yang baik. Nanopartikel perak memiliki kenampakan plasma lokal permukaan dalam respon optis linier dan nonlinier. *Surface Plasmon Resonance* memainkan peran penting dalam

penentuan penyerapan optik spektrum nanopartikel logam, yang bergeser ke panjang gelombang yang lebih panjang dengan peningkatan ukuran partikel (Elumalai *et al.*, 2011).

2.1.2 Pemanfaatan Nanopartikel Perak

Nanopartikel perak digunakan diberbagai bidang, dan aplikasi utama termasuk penggunaannya sebagai katalis, sebagai sensor optik konsentrasi *zeptomole*, teknik tekstil, elektronik, optik, dan yang paling penting dibidang kesehatan sebagai bakterisida dan sebagai agen terapeutik. Ion perak digunakan dalam formula komposit resin gigi, dalam lapisan perangkat medis; sebagai pelapis bakterisida dalam filter air.

Selain itu sebagai agen antimikroba di spray udara, bantal, respirator, kaus kaki, tisu basah, deterjen, sabun, sampo, pasta gigi, mesin cuci, dan banyak produk lainnya; seperti perban luka. berbagai kategori dari bermacam produk telah tersedia di pasar industri. Dalam bidang medis, nanopartikel perak diaplikasikan dalam pembalut luka, instrumen bedah dan prostesis tulang yang dilapisi dengan nanopartikel perak. Dalam kehidupan sehari-hari, nanopartikel perak digunakan dalam deterjen, pemurnian air , dan cat tembok yang mengandung nanopartikel perak (Elumalai *et al.*, 2011).

Nanopartikel perak juga ditemukan sebagai aplikasi dalam salep topikal dan krim yang digunakan untuk mencegah infeksi luka bakar dan luka terbuka. Produk mengandung perak seperti gel koloid perak dan kain mengandung perak sekarang digunakan dalam peralatan olahraga. Sensitivitas dan kinerja biosensor ditingkatkan dengan nanomaterial. Banyak teknologi transduksi sinyal yang telah

diketahui seperti biosensor, *bioprobe* dan biosistem lainnya menggunakan nanomaterial yang dihasilkan melalui organisme hidup (Elumalai *et al.*, 2011).

Nanopartikel ditemukan dalam aplikasi antibakteri. Kain yang dilapisi dengan nanopartikel perak menjadi steril dan dapat digunakan di rumah sakit untuk mencegah atau meminimalkan infeksi dengan bakteri patogen seperti *S.aureus* (Elumalai *et al.*, 2011). Aplikasi nanopartikel perak pada serat, seperti serat katun dan nilon untuk mendapatkan sifat antimikroba telah semakin banyak dipelajari, beberapa bakteri menunjukkan kecenderungan yang meningkat pada daya tahannya terhadap antibiotik. Dispersi sejumlah kecil nanopartikel perak pada serat telah terbukti efektif dan hemat biaya untuk meningkatkan kinerja sifat serat terhadap mikroba (Haryono, 2010).

2.2 Aktivitas antibakteri nanopartikel perak

Aktivitas antibakteri perak secara umum dan nanopartikel perak khususnya merupakan topik yang menarik karena dapat melawan strain bakteri. Antibiotik resisten terhadap strain bakteri dipengaruhi oleh perak. Selama ribuan tahun, telah diketahui bahwa ion-ion perak menunjukkan efek inhibisi yang kuat terhadap bakteri. Penelitian juga menunjukkan aktivitas antiviral terhadap *Human Immune Deficiency virus* (HIV-1) dengan berbagai logam nanopartikel (Creighton *et al.*, 1979).

Mekanisme antibakteri nanopartikel perak menurut Li *et al.*, (2008) meliputi:

1. Adhesi nanopartikel terhadap permukaan bakteri yang mengubah sifat membran. Nanopartikel dengan ukuran kecil dan luas permukaan besar mampu berhubungan dengan permukaan mikroorganisme.

2. Nanopartikel perak masuk ke dalam sel bakteri menyebabkan kerusakan DNA.
3. Nanopartikel perak melepaskan ion Ag^+ yang dapat berinteraksi dengan protein yang mengandung sulfur dalam dinding sel bakteri. Ion Ag^+ terlarut berinteraksi dengan dinding sel dan protein sitoplasma.

Bentuk nanopartikel perak merupakan faktor penting pada sifat antibakteri. Menurut Pal *et al.*, (2007) nanopartikel perak triangular dengan bidang kisi {111} pada bidang dasar menunjukkan sifat biosida paling kuat melawan *Eschericia coli* dibandingkan dengan nanopartikel sferik dan batang. Nanopartikel perak triangular menghasilkan penghambatan pertumbuhan bakteri pada konten total perak 1 μg . Ion perak menyebabkan penghilangan ion K^+ dari bakteri, kemudian, plasma bakteri atau membran sitoplasma, yang terasosiasi dengan beberapa enzim dan DNA, merupakan target ion perak. Ketika pertumbuhan bakteri terhambat, ion perak terdeposisi ke dalam vakuola dan dinding sel seperti granula. Ion perak menghambat divisi sel dan merusak membran sel dan isi sel bakteri. Ketidaknormalan struktur terjadi ketika ukuran bakteri meningkat, membran sitoplasma, isi sitoplasma, serta lapisan luar berubah. Sebagai tambahan, ion perak dapat berhubungan dengan asam nukleat, yang mencegah hubungan dengan basa DNA daripada dengan gugus fosfat (Kim *et al.*, 2011).

2.3 Sintesis dan Karakterisasi Nanopartikel Perak

2.3.1 Sintesis Nanopartikel Perak

Terdapat beberapa cara untuk mensintesis nanopartikel perak yaitu meliputi metode fisika, kimia dan biologi. Sejumlah pendekatan yang ada misalnya,

reduksi larutan, kimia dan reaksi fotokimia dalam misel terbalik, dekomposisi termal dari senyawa perak, dengan bantuan radiasi, elektrokimia sonokimia dan dengan bantuan proses *microwave* dan dewasa ini melalui metode *green chemistry* (Begum *et al.*, 2009).

Penggunaan bahan-bahan ramah lingkungan seperti tanaman, bakteri, dan jamur (Bhainsa dan Souza, 2006). Sintesis nanopartikel perak menawarkan banyak manfaat ramah lingkungan dan kompatibilitas untuk aplikasi farmasi dan biomedis lainnya karena tidak menggunakan bahan kimia beracun untuk protokol sintesis. Metode-metode sintesis kimia memakai bahan-bahan kimia beracun yang terserap dipermukaan yang memiliki efek negatif pada aplikasi medis.

Sintesis biologis memberikan kemajuan atas metode kimia dan fisika karena biaya yang murah, ramah lingkungan, dapat digunakan dalam sintesis skala besar dan dalam metode ini tidak perlu menggunakan tekanan tinggi, energi, suhu dan bahan kimia beracun (Elumalai *et al.*, 2011). Beberapa faktor yang mempengaruhi proses reduksi ion logam menjadi nanopartikel logam seperti suhu, pH dan lain-lain. Suhu memiliki efek penting pada pembentukan nanopartikel.

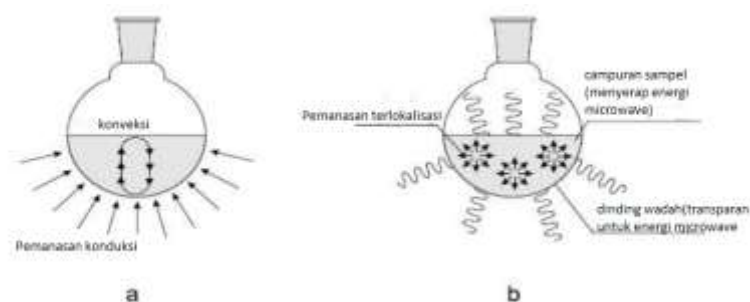
2.3.2 Sintesis Nanopartikel Perak dengan Irradiasi *Microwave*

Microwave didefinisikan sebagai gelombang elektromagnetik dengan panjang gelombang vakum dengan rentang yang digunakan antara 0,1 sampai 100 cm, atau ekuivalen dengan frekuensi antara 0,3 -300 GHz (Jain, 2011). *Microwave* domestik dan industri umumnya dioperasikan dengan 2,45 GH dengan panjang gelombang 12,2 cm dan energi 1.02×10^{-5} eV (Jacob dan Boey, 1995). Area spektra elektromagnetik irradiasi *microwave* berada antara radiasi infra merah

dan gelombang radio. Irradiasi *microwave* merupakan metode cepat dan efisien dalam sintesis dengan variasi senyawa karena selektivitas absorpsi dari energi *microwave* pada molekul polar (Surati *et al.*, 2012).

Pemanasan dielektrik *microwave* menyebabkan padatan dan cairan mengubah radiasi elektromagnetik menjadi kalor untuk reaksi kimia. Teknologi tersebut dapat membentuk reaksi baru yang tidak mungkin menggunakan pemanasan konvensional (Jain, 2011). Prinsip dari pemanasan menggunakan *microwave* berdasarkan pengaruh langsung dari gelombang pada molekul dengan konduksi ionik dan rotasi dipole. Matrik tanaman dalam pelarut dengan konstanta dielektrik tinggi secara cepat dipanaskan dengan *microwave*, pemecahan struktur seluler dan pelepasan kompoen yang diinginkan ke dalam media sekitar.

Proses kimia dalam kondisi *microwave* lebih pendek daripada kondisi konvensional, mekanisme dan kinetika reaksi tetap sama. Waktu reaksi yang lebih cepat merupakan hasil dari temperatur dari reaksi di bawah irradiasi *microwave*. Pada *microwave* pemanasan volumetrik dari bahan (Gambar 2.1) menyebabkan pemanasan di dalam lebih menyeluruh dibandingkan dengan pemanasan pada lapisan luar bahan pada metode konvensional yang menyebabkan pengukuran temperatur reaksi lebih baik (Surati *et al.*, 2012).



Gambar 2.1 Perbedaan mekanisme pada metode konvensional dan *microwave*.
(a) Pemanasan secara konvensional dan (b) Pemanasan secara *microwave*

Irradiasi *microwave* memiliki keuntungan yaitu pemanasan homogen yang dapat berpengaruh secara langsung pada proses nukleasi sintesis nanopartikel perak (Punuri *et al.*, 2012). Sintesis dengan bantuan *microwave* merupakan metode yang menjanjikan untuk sintesis nanopartikel perak. Pemanasan *microwave* lebih baik daripada pemanasan konvensional untuk secara konsisten memperoleh hasil nanopartikel dengan ukuran kecil, distribusi ukuran lebih ringkas, dan kristalisasi derajat tinggi. Pemanasan *microwave* membutuhkan waktu reaksi lebih pendek, mengurangi konsumsi energi dan hasil yang lebih baik dengan mencegah aglomerasi pada pembentukan partikel (Iravani *et al.*, 2013).

Terdapat dua prinsip utama dalam *microwave*, yaitu mekanisme dipolar dan mekanisme konduktor elektrik. Mekanisme dipolar muncul ketika frekuensi tinggi pada medan elektrik, molekul polar berusaha untuk mengikuti bidang yang selaras. Ketika hal ini terjadi, molekul melepaskan panas untuk mendorong reaksi berjalan. Pada mekanisme kedua, sampel terirradiasi merupakan konduktor elektrik dan pembawa muatan (elektron, ion) berpindah melalui bahan di bawah pengaruh medan elektrik, menghasilkan polarisasi. Induksi tersebut menyebabkan panas pada sampel karena penolakan elektrik (Nadagouda *et al.*, 2010).

2.3.2 Karakterisasi Nanopartikel Perak

2.3.2.1 Spektroskopi Ultra-Violet Visible

Spektroskopi adalah studi mengenai interaksi cahaya dengan atom dan molekul. Dasar Spektroskopi UV-Vis adalah serapan cahaya, radiasi cahaya atau elektromagnet dapat dianggap menyerupai gelombang. Bila cahaya jatuh pada senyawa, maka sebagian dari cahaya diserap oleh molekul-molekul sesuai dengan

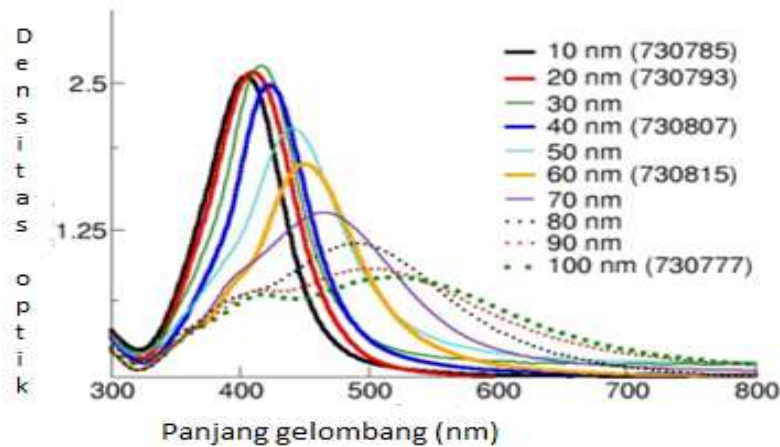
struktur dari molekul senyawa tersebut. Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum UV-Vis tergantung pada struktur elektronik dari molekul (Underwood, 2002).

Spektroskopi UV-Vis merupakan teknik yang digunakan untuk menentukan cahaya yang terserap dan tersebar oleh sampel. Dalam bentuk sederhana, sampel ditempatkan antara sumber cahaya dan fotodetektor, dan intensitas cahaya ditentukan sebelum dan setelah melalui sampel. Pengukuran dibandingkan pada setiap panjang gelombang untuk menentukan panjang gelombang sampel tergantung pada spektra. Data ditempatkan dengan fungsi panjang gelombang.

Nanopartikel memiliki sifat optis yang sensitif terhadap ukuran, bentuk, konsentrasi, aglomerasi, dan indeks reflektif mendekati permukaan nanopartikel sehingga spektroskopi UV-Vis berfungsi dalam identifikasi, karakterisasi, dan pengkajian material tersebut. Nanopartikel yang terbuat dari logam tertentu seperti emas dan perak, berinteraksi secara kuat dengan panjang gelombang tertentu dari cahaya dan sifat optis unik dari material tersebut merupakan dasar dari sifat plasmonik. (Ronson, 2012). Spektra UV-Vis sensitif terhadap pembentukan koloid perak karena nanopartikel perak menunjukkan *peak* absorpsi yang intens karena eksitasi permukaan plasmon (menggambarkan eksitasi bersama dari konduksi elektron dalam logam) (Sileikaite *et al.*, 2006).

Penyebaran nanopartikel tergantung pada panjang gelombang dengan panjang gelombang pendek (ultra violet atau cahaya biru) tersebar secara intens daripada panjang gelombang yang lebih panjang (cahaya merah). Penyebaran cahaya partikel yang lebih besar tidak tergantung panjang gelombang (Taylor *et al.*,

2013). Koloid nanopartikel perak memiliki puncak serapan dengan kisaran rentang 400 nm hingga 530 nm pada analisis spektrofotometer.



Gambar 2.2 Spektrogram ekstingsi nanopartikel perak dengan rentang antara 10-100 nm pada konsentrasi masa 0,02 mg/mL (Singht *et al.*, 2013)

Persentase relatif dari penyebaran atau penyerapan dari spektra terukur tergantung ukuran, bentuk, komposisi dan agregasi dari sampel. Sampel dapat menyerap cahaya, menyebarkan cahaya atau keduanya. Partikel lebih kecil memiliki persentase absorpsi yang lebih tinggi. Sifat optis dari nanopartikel perak berubah ketika partikel teraglomerasi dan konduksi elektron yang mendekati permukaan partikel menjadi terdelokalisasi dan terbagi dengan partikel lain. Ketika hal ini muncul, *Surface Plasmon Resonance* (SPR) berpindah ke energi yang lebih rendah, menyebabkan puncak serapan berpindah pada panjang gelombang yang lebih besar (Singh *et al.*, 2013).

2.3.2.2 Particle Size Analysis (PSA)

Karakterisasi menggunakan PSA digunakan untuk menentukan ukuran rata-rata nanopartikel perak. PSA menggunakan metode *Dinamyc Light Scattering* (DLS) yang memanfaatkan hamburan inframerah. DLS disebut juga sebagai

Spektroskopi Korelasi Foton. Hamburan inframerah ditembakkan oleh alat ke sampel sehingga sampel akan bereaksi menghasilkan gerak Brown (gerak acak dari koloidal partikel yang sangat kecil dalam cairan akibat dari benturan dengan molekul-molekul yang ada dalam zat cair). Semakin kecil ukuran partikel, maka gerak brown semakin cepat (Rawle, 2010).

Ukuran partikel yang diukur dengan DLS yaitu diameter dari lingkaran partikel yang terdifusi dengan kecepatan yang sama pada saat pengukuran. Kecepatan pada fluktuasi intensitas tertentu tergantung pada ukuran partikel. Analisa distribusi ukuran pada partikel berdasarkan pada ukuran maksimum yang dihasilkan dalam persentase volume sampel tertentu (Rawle, 2010).

2.3.2.3 *Transmission Electron Microscopy (TEM)*

TEM adalah alat yang paling teliti digunakan untuk menentukan ukuran partikel karena resolusinya yang sangat tinggi. Partikel dengan ukuran beberapa nanometer dapat diamati dengan jelas menggunakan TEM. Pada TEM, sampel yang sangat tipis ditembak dengan berkas elektron yang berenergi sangat tinggi (dipercepat pada tegangan ratusan kV). Berkas elektron dapat menembus bagian yang “lunak” sampel tetapi ditahan oleh bagian keras sampel (seperti partikel). Detektor yang berada di belakang sampel menangkap berkas elektron yang lolos dari bagian lunak sampel. Akibatnya detektor menangkap bayangan yang bentuknya sama dengan bentuk bagian keras sampel (bentuk partikel) (Abdullah dan Khairurrijal, 2009).

Sampel harus setipis mungkin sehingga dapat ditembus elektron. Sampel ditempatkan di atas grid TEM yang terbuat dari tembaga atau karbon. Jika sampel

berbentuk partikel, biasanya partikel didispersi di dalam zat cair yang mudah menguap seperti etanol lalu ditetaskan ke atas grid TEM. Jika sampel berupa komposit partikel di dalam material lunak seperti polimer, komposit tersebut harus diiris tipis (beberapa nanometer). Alat pengiris yang digunakan adalah *microtome*. Jika sampel yang diamati dengan TEM berbentuk partikel maka distribusi ukuran partikel dapat ditentukan dengan cara yang sama dengan menentukan distribusi ukuran partikel hasil foto SEM (Abdullah dan Khairurrijal, 2009).

Terdapat beberapa keuntungan dari Selected Area Electron Diffraction (SAED) berdasarkan analisis struktur, analisis volume kecil, dan informasi seleksi visual dari volume teranalisis dari gambar. Butiran besar (dengan dimensi sis lebih dari 100 nm) dapat diperlakukan sebagai kristal tunggal dalam TEM. Identifikasi simultan pada fase dan orientasi dapat diketahui dengan pola SAED. Proses Difraksi menghilangkan ambiguitas dengan mengevaluasi secara simultan beberapa pola SAED (dari butiran yang sama) dari rangkaian kemiringan, ditempatkan pada pengaturan goniometri (Labar *et al.*, 2009).

2.4 Green Synthesis Nanopartikel Perak

2.4.1 Sintesis Nanopartikel Perak menggunakan Bioreduktor Ekstrak Tanaman

Persoalan jika menggunakan metode kimia dan fisika pada produksi nanopartikel perak adalah mahal dan penggunaan bahan yang beracun dan berbahaya yang memiliki resiko lingkungan yang tinggi, sehingga dibutuhkan metode yang lebih ekonomis dan ramah lingkungan dengan menggunakan

tanaman untuk mensintesis nanopartikel perak (*green synthesis*). Tanaman berfungsi sebagai reduktor dan stabilisator dalam sintesis nanopartikel perak. Stabilisator melindungi nanopartikel dan mencegah terjadi agregasi. Komponen polyol dan komponen heterosiklik larut dalam air berperan dalam reduktor dan stabilisator ion perak (Vithiya dan Sen, 2011).

Setiap tanaman menghasilkan berbagai macam metabolit sekunder. Salah satu gugus terpenting dari metabolit tersebut adalah senyawa fenolik. Fenolik memiliki paling tidak satu cincin aromatik (C6) yang membawa gugus hidroksil. Sifat antioksidan senyawa fenolik melalui kecenderungannya mengkelat logam (Michalak, 2006). Sifat antioksidan senyawa fenolik juga karena pembentukan radikal H^+ yang mereduksi ukuran partikel perak menjadi ukuran nano (Devi *et al.*, 2014). Fenolik memiliki gugus hidroksil dan karbonil yang dapat mengikat logam. Kemampuan mengkelat logam dari senyawa fenolik karena memiliki karakter nukleofilik yang tinggi dari cincin aromatik (Michalak, 2006).

Atom Ag (0) berkorelasi satu sama lain membentuk nanopartikel perak dan distabilkan oleh turunan fenolik dan ligan lain yang terdapat pada tanaman. Senyawa orto dihidroksi dapat membentuk kompleks khelat dengan Ag^+ . Khelat Ag^+ dapat tereduksi menjadi Ag^0 dengan disertai oksidasi dari senyawa orto-dihidroksi. Tumbukan sesama atom Ag^0 satu sama lain menyebabkan pembentukan nanopartikel perak. Nanopartikel perak dapat distabilkan oleh senyawa polifenol, quinon, dan fitokimia koordinasi lain yang terdapat pada ekstrak daun (Majumdar *et al.*, 2013).

Flavonoid merupakan gugus besar dari senyawa polifenol yang mempunyai beberapa kelas : antosianin, isoflavonoid, flavonol, kalkon, flavon, dan flavanon yang secara aktif mengkelat dan mereduksi ion logam menjadi nanopartikel. Flavonoid mengandung beberapa gugus fungsional yang berperan dalam pembentukan nanopartikel. Terdapat postulat bahwa transformasi tautomeri dari flavonoid dari bentuk enol menjadi keto dapat melepaskan atom hidrogen yang reaktif yang dapat mereduksi ion logam menjadi nanopartikel. Beberapa flavonoid dapat mengkelat ion logam dengan gugus karbonil dan elektron π . Mekanisme tersebut juga menjelaskan kemampuan flavonoid terserap ke dalam permukaan nanopartikel.

Mekanisme sintesis nanopartikel perak dengan ekstrak tanaman meliputi:

1. Fase aktivasi selama reduksi ion logam dan nukleasi dari atom logam yang tereduksi.
2. Fase pertumbuhan selama nanopartikel saling berdekatan berkumpul secara spontan menjadi partikel yang lebih besar. Pembentukan nanopartikel langsung dari nukleasi dan pertumbuhan heterogen, kemudian reduksi ion logam, meningkatnya stabilitas termodinamik dari nanopartikel.
3. Fase proses terminasi yang menentukan bentuk akhir dari nanopartikel.

Efisiensi dari sintesis nanopartikel logam tergantung pada potensial elektrokimia dari ion karena kemampuan terbatas dari tanaman dalam mereduksi ion logam. Sehingga ekstrak tanaman secara efektif mereduksi ion logam lebih signifikan pada ion yang memiliki potensial elektrokimia positif yang tinggi seperti Ag^+ daripada ion dengan potensial elektrokimia yang rendah seperti

($[\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^{3-}$). Nanopartikel yang disintesis menggunakan ekstrak tanaman mengandung ligan organik, protein, polisakarida dan alkohol poliatomik yang tidak terdapat dalam sintesis nanopartikel menggunakan metode fisika dan kimia. Adanya komponen biologi meningkatkan stabilitas partikel (Makarov *et al.*, 2014).

Penggunaan sokletasi dalam ekstraksi tanaman dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi (Brewer, 2011). Banyak penelitian menyebutkan bahwa pelarut polar menghasilkan konsentrasi fenolik yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut non polar. Penggunaan pelarut alkohol absolut dapat menurunkan hasil ekstraksi sehingga kombinasi air dengan alkohol membuat ekstraksi optimal, luas permukaan yang berhubungan antara matriks tanaman dengan pelarut meningkatkan hasil ekstraksi (Bandar *et al.*, 2013). Senyawa fitokimia dalam daun sirih kebanyakan bersifat polar dan larut dalam air. Etanol merupakan pelarut yang baik dan aman untuk ekstraksi polifenol. Penambahan air dengan etanol meningkatkan laju ekstraksi (Shi *et al.*, 2005).

2.4.1.1 Komponen Daun Sirih sebagai bioreduktor

Sirih (*Piper betle linn.*) berkembang di India, Sri Lanka, Malaysia, Indonesia, Filipina dan Afrika Timur (Pradhan *et al.*, 2013). Menurut Devi *et al.*, (2014) dan Tripathi (2014) sirih mengandung senyawa antioksidan dalam jumlah yang besar. Senyawa fenolik dalam daun sirih adalah hidroksikalvikol, kavikol, kavibetol asetat eugenol dan lain-lain.



Gambar 2.3 Daun sirih hijau

. Nordin *et al.*, (2014) dalam penelitiannya, ekstrak air daun sirih dianalisis menggunakan LC-MS/MS terdapat kandungan asam hidroksibenzoat, kavibetol dan hidroksikavikol. Ferreres *et al.*, (2014) menyebutkan bahwa terdapat dua belas senyawa fenolik, fenilpropanoid, lima sinnamoil dan enam turunan flavonoid dalam ekstrak etanol dan air daun sirih.

2.5 Penelitian Terkait

Terdapat beberapa cara untuk mensintesis nanopartikel perak yaitu meliputi metode fisika, kimia dan biologi. Sejumlah pendekatan yang ada misalnya, reduksi larutan seperti pada penelitian Ariyanta *et al.*, (2014) dengan preparasi nanopartikel perak dengan metode reduksi dan aplikasinya sebagai antibakteri penyebab infeksi. Dalam penelitian tersebut menggunakan reduktor larutan $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ 1% dengan cara menambahkan tetes demi tetes dan selama proses

pemanasan menggunakan *magnetic stirrer*. Puncak absorbansi yang didapat diantara 418 -419 nm dengan konsentrasi reduktor 0,5 % -1 %.

Sintesis biologis memberikan kemajuan atas metode kimia dan fisika karena biaya yang murah, ramah lingkungan, dapat digunakan dalam sintesis skala besar dan dalam metode ini tidak perlu menggunakan tekanan tinggi, energi, suhu dan bahan kimia beracun. Senyawa fitokimia dalam daun sirih kebanyakan bersifat polar dan larut dalam air. Etanol merupakan pelarut yang baik dan aman untuk ekstraksi polifenol. Penambahan air dengan etanol meningkatkan laju ekstraksi (Shi *et al.*, 2005).

Azizinezhad *et al.*, (2014) menggunakan metode soxhlet dalam ekstraksi tanaman menggunakan variasi pelarut air, etanol, dimetil sulfoksida dan heksana. Spektra UV-Vis menunjukkan puncak absorbansi pada 415 nm selama 12 jam dalam etanol, sedangkan pada dimetil sulfoksida menunjukkan absorbansi setelah 75 menit.

Hazarika *et al.*, (2014) menggunakan pelarut heksana dan etanol dalam ekstraksi tanaman. Spektra UV-Vis menunjukkan resonansi plasma permukaan pada 459 nm. Intensitas puncak absorpsi meningkat sesuai dengan lama waktu. Penelitian ini menggunakan irradiasi *microwave* untuk membantu proses sintesis. Irradiasi *microwave* memiliki keuntungan yaitu pemanasan homogen yang dapat berpengaruh secara langsung pada proses nukleasi sintesis nanopartikel perak . Dalam penelitian Punuri *et al.*, (2012) menggunakan pelarut etanol dalam ekstraksi dan disintesis dengan irradiasi *microwave* dengan variasi waktu 12

sampai 30 detik. Sintesis dengan waktu 18 detik merupakan waktu optimal dalam sintesis nanopartikel emas.

Dalam penelitian Renugadevi dan Aswini (2012) perak nitrat yang mengandung ekstrak tanaman disintesis dalam irradiasi *microwave*, ion perak mengalami perubahan warna menjadi kecoklatan karena reduksi ion perak, mengindikasikan terbentuknya nanopartikel perak. Perubahan warna terjadi setelah 5 menit. Dalam penelitian Kudle *et al.*, (2013) menggunakan waktu sintesis dalam *microwave* selama 120 menit terjadi perubahan warna larutan menjadi kemerahan. Perubahan warna menjadi coklat terang setelah 15 menit pada suhu 80°C.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.

3.2 Variabel Penelitian

Variabel penelitian ini dibagi menjadi tiga macam yaitu:

3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi AgNO_3 dengan variasi (0,5 mM, 1 mM dan 1,5 mM) dan waktu reaksi (140 detik, 160 detik, 180 detik, 200 detik dan 220 detik).

3.2.2 Variabel Terikat

Variabel Terikat dalam penelitian ini adalah karakteristik nanopartikel yang dianalisis menggunakan Spektrofotometer UV-Vis, PSA dan TEM serta aktivitas antibakteri nanopartikel perak.

3.2.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah daun sirih, waktu sokletasi ekstrak (6 jam) dan daya microwave (30 % 320 watt).

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas (Pyrex), cawan porselin, *heating mantle* (electrothermal), perangkat sokletasi, oven (Mettler), blender (Miyako), *microwave* (LG), neraca analitik (Denver Instrument), ayakan 50 mesh, stirer (Daihan LabTech), Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1601), Particle Size Analysis (Malvern 1.20) Transmission Electron Microscope (JEM- 1400), Coloni Counter, cawan petri, inkubator, jarum ose, autoklaf, lampu spiritus, vial steril

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih, perak nitrat (AgNO_3) 99% dari Sigma Aldrich, aquades, etanol p.a, kertas Whatman, arang aktif, kertas cakram, nutrient broth (NB), nutrient agar (NA), suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Preparasi Bioreduktor Daun Sirih

3.4.1.1 *Penyiapan Sampel*

Daun sirih dicuci dengan air mengalir kemudian dengan akuades, dipotong kecil lalu dikering-anginkan terlindung dari cahaya matahari selama 7 hari. Setelah kering daun sirih diblender hingga menjadi serbuk kemudian diayak dengan ayakan 50 mesh.

3.4.1.2 Penetapan Kadar Air Sampel

Penetapan kadar air sampel kering mengacu pada Mokoginta *et al.*, (2013). Cawan kosong dikeringkan pada suhu 105 °C dan kemudian didinginkan dalam desikator. Setelah dingin berat cawan ditimbang. Sampel sebanyak 2 gram ditimbang dan dimasukkan dalam cawan kosong tersebut. Cawan yang berisi sampel dimasukkan dalam oven suhu 105 °C selama 3 jam. Setelah kering, didinginkan dalam desikator. Ditimbang kembali cawan yang berisi sampel.

3.4.1.3 Ekstraksi Sampel

Ekstraksi Sampel dalam preparasi bioreduktor ekstrak daun sirih metode ini mengacu pada penelitian yang dikembangkan oleh Aziziezhad *et al.*, (2014) dan Hazarika *et al.*, (2014) menggunakan sokhlet. 20 gram serbuk daun sirih dibungkus dalam kertas saring diekstraksi dengan 200 ml pelarut etanol 25% dengan alat soklet sampai pelarut menjadi tidak berwarna. 200 ml ekstrak dicampurkan dengan 5 gram arang aktif yang telah dipanaskan dengan oven pada suhu 120°C 1 jam, distirer selama 30 menit. Ekstrak disaring dengan kertas Whatman.

3.4.2 Sintesis dan Karakterisasi Nanopartikel Perak

3.4.2.1 Sintesis Nanopartikel Perak dengan Irradiasi Microwave

Sintesis nanopartikel perak mengacu pada prosedur yang dikembangkan oleh Kudle *et al.*, (2014) . Ion perak direduksi dalam ukuran nano menggunakan bioreduktor ekstrak tanaman. Dalam penelitian ini menggunakan daun sirih yang diekstraksi dengan konsentrasi etanol 25% menggunakan metode sintesis irradiasi microwave. 5 mL ekstrak dalam 45 mL AgNO₃ variasi konsentrasi 0,5 mM, 1,0

mM dan 1,5 mM disintesis dalam *microwave* sampai terjadi perubahan warna. Terbentuknya nanopartikel perak ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi kuning kecoklatan. Selanjutnya nilai absorbansi dan λ_{\max} diketahui dengan Spektroskopi UV-Vis.

3.4.2.2 Karakterisasi Nanopartikel Perak

3.4.2.2.1 Spektrofotometer UV-Vis

Nanopartikel perak yang terbentuk dikarakterisasi dengan spektrofotometer UV- Vis bertujuan untuk menentukan terbentuknya nanopartikel perak dan kestabilannya. Karakterisasi spektrofotometer UV-Vis mengacu pada penelitian Maheswari *et al.*, (2012) dengan rentang 300 nm- 700 nm menggunakan kuvet quartz dengan blanko akuades. Reduksi ion perak diketahui dari spektra UV-Vis. Koloid nanopartikel perak terbentuk dengan puncak resonansi plasmon kisaran rentang antara 400 nm- 450 nm.

3.4.2.2.2 Particle Size Analyzer (PSA)

Nanopartikel perak yang terbentuk dikarakterisasi dengan PSA bertujuan untuk menentukan ukuran partikel. Analisa distribusi ukuran pada partikel berdasarkan pada ukuran maksimum yang dihasilkan dalam persentase volume sampel tertentu.

3.4.2.2.3 Transmission Electron Microscopy (TEM)

Nanopartikel perak yang paling optimal dikarakterisasi dengan TEM. Tujuan karakterisasi ini adalah untuk mengetahui morfologi dan ukuran dari gambar yang dihasilkan. Beberapa tetes koloid nanopartikel perak ditetaskan pada grid TEM dan residu dihilangkan dengan kertas penyaring di bawah grid TEM.

3.4.3 Uji Kestabilan Nanopartikel menggunakan Spektrometer UV-Vis

Nanopartikel perak diharapkan memiliki spektra absorbansi yang stabil. Stabilitas dapat diukur secara berkala 0- 2 minggu setelah sintesis.

3.4.4 Uji Antibakteri

Uji antibakteri mengacu pada prosedur yang dikembangkan oleh Wahyudi *et al.*, (2011) dengan kontrol ekstrak daun sirih dan variasi perbandingan konsentrasi perak nitrat (0,5 mM, 1 mM, 1,5 mM)

3.4.4.1 *Preparasi Pengujian Antibakteri*

3.4.4.1.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat pengujian dicuci lalu dikeringkan kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf. Autoklaf ditempatkan di atas kompor selama 10 menit pada suhu 100°C. apabila petunjuk pengaman telah menunjukkan tekanan 2 atm dan temperatur 121°C maka temperatur dipertahankan selama 20 menit. Ketika telah selesai kompor dimatikan dan klep pengaman dibuka, tekanan dibiarkan turun hingga 1 atm.

3.4.4.1.2 Pembuatan Media Nutrien Agar

Serbuk nutrien agar 20 gram yang terdiri dari 5 gram pepton, 3 gram ekstrak daging, dan 12 gram serbuk agar ditambah aquades sampai dengan 1000 mL, kemudian dipanaskan sambil diaduk dengan *magnetic stirrer* hingga homogen. Medium agar yang telah siap dimasukkan dalam erlenmeyer tahan panas kemudian ditutup dengan kapas dan kertas sampul coklat lalu disterilkan.

3.4.4.1.3 Pembuatan Media Nutrient Broth

Pasta Nutrient Broth (NB) ditimbang sebanyak 8 gram yang terdiri atas 5 gram pepton dan 3 gram ekstrak daging. Pasta NB dimasukkan dalam erlenmeyer dan ditambahkan 1000 mL aquades. Campuran diaduk dengan *magnetic stirrer* hingga homogen. Media NB yang telah siap dimasukkan dalam erlenmeyer tahan panas lalu ditutup dengan kapas dan kertas sampul coklat untuk disterilkan.

3.4.4.1.4 Penyediaan Bakteri dan Suspensi Bakteri

Bakteri uji ditanamkan di atas permukaan agar miring yang memadat dalam tabung dan diinkubasikan selama 24 jam pada temperatur 37 °C. Satu ose koloni sel bakteri dari media agar miring diambil, diencerkan dan diinokulasikan dalam 10 mL Nutrient Broth lalu diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37 °C.

3.4.4.2 *Pengujian Aktivitas Antibakteri*

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan secara kualitatif mengacu pada penelitian Wahyudi *et al.*, (2011). Uji kualitatif dilakukan dengan pengamatan zona hambat dengan merendam cakram kertas kedalam koloid nanopartikel perak lalu ditempel pada permukaan Nutrien Agar yang telah ditumbuhkan bakteri uji . Nutrien Agar yang telah ditempel kertas cakram diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37 °C.

3.5 Analisis data

Analisis data dalam penelitian ini meliputi karakteristik nanopartikel perak yang disintesis dengan ekstrak daun sirih dengan irradiasi *microwave* dan data pengujian antibakteri. Nanopartikel perak dianalisis menggunakan Spektroskopi UV-Vis, PSA dan TEM. Uji antibakteri nanopartikel perak meliputi uji kualitatif dengan pengamatan zona hambat.

BAB 5

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan maka dapat ditarik simpulan sebagai berikut:

1. Kondisi optimal sintesis nanopartikel perak dengan λ_{\max} 415 nm diperoleh dengan konsentrasi AgNO_3 0,5 mM dan waktu sintesis 200 detik. Semakin besar konsentrasi AgNO_3 menghasilkan ukuran nanopartikel perak yang lebih besar dan heterogen. Nanopartikel mengalami nukleasi optimal dan menghasilkan ukuran partikel yang paling kecil pada waktu sintesis 200 detik.
2. Nanopartikel perak optimal yang dikarakterisasi dengan TEM berbentuk sferik kristalin dengan ukuran terkecil 11,94 nm dan rata-rata ukuran partikel 37,44 nm dengan struktur *face centered cubic* (fcc).
3. Nanopartikel perak mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif lebih kuat daripada bakteri Gram negatif. Peningkatan konsentrasi AgNO_3 pada nanopartikel perak menunjukkan daya hambat bakteri semakin menurun, karena nanopartikel perak yang berukuran lebih kecil lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

3.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, penulis memberikan saran sebagai berikut:

1. Penelitian lebih lanjut mengenai karakterisasi bioreduktor menggunakan FTIR untuk mengetahui oksidasi senyawa yang terkandung dalam bioreduktor.
2. Penelitian lebih lanjut mengenai *green synthesis* menggunakan penambahan stabilisator khusus yang ramah lingkungan untuk mendapatkan kestabilan yang lebih baik.
3. Pemahaman mengenai sintesis nanopartikel perak dengan *microwave* terutama tentang perubahan warna agar tidak terjadi *over heating*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M dan Khairurrijal. 2009. Review: Karakterisasi Nanomaterial. *Jurnal Nanosains dan Nanoteknologi*, 2(1): 4-5
- Ahmad, N dan S. Sharma. 2012. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Extracts of *Ananas comosu*. *Green and Sustainable Chemistry*, 1(2):141-147.
- Agarwal, T., R. Singh, AD. Shukla, I. Waris dan A. Gujrati.2012. Comparative analysis of antibacterial activity of four *Piper betel* varieties. *Applied Science Research*, 3 (2):698-705
- Ali, K., B. Ahmed, S. Dwivedi, Q. Saquib, A. Abdulaziz, Al Khedhairi, J. Musarrat. 2015. Microwave Accelerated Green Synthesis of Stable Silver Nanoparticles with *Eucalyptus globulus* Leaf Extract and Their Antibacterial and Antibiofilm Activity on Clinical Isolates. *PlosOne*, 1(1):1-20.
- Ariyanta, HA., S. Wahyuni dan S. Priatmoko. 2014. Preparasi Nanopartikel Perak dengan Metode Reduksi dan Aplikasinya sebagai Antibakteri Penyebab Infeksi. *Indo.J.Che, Sci*3(1): 2-5.
- Azizinezhad, F., Z. Nasrullahi dan S.K Sadnezhaad. 2014. Synthesis of The Silver Nanoparticles with Using of Camomile Plant. *European Journal of Experimental Biologi*, 4(2):124-127.
- Bandar, H., A. Hijazi, H. Rammal, A. Hachem, Z. Saad dan B. Badran. 2013. Techniques for the Extraction of Bioactive Compound from Lebanese *Urtica dioica*. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 507-513.
- Begum, N.A., S. Mondal, S. Basu, R.A. Laskar dan D. Mandal. 2009. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 71(1): 113.
- Bhainsa, K.C dan S.F.D. Souza. 2006. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 47(1): 160.
- Brewer, M.S. 2011. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanism of Action, and Potential Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(1): 223-239.
- Creighton, J.A., C.G Blatchford, dan M.G Albrecht. 1979. Plasma Resonance Enhancement of Raman Scattering by Pyridine Adsorbed on Silver or

Gold Sol Particles of Size Comparable to The Excitation Wavelength. *J Chem Soc Faraday Trans II*, 75(1): 798- 800.

- Devi, R.K., Bhanisana, H.N.K Srma, W. Radhapiyari dan C.H Brajakishor. 2014. Green Synthesis, Characterization and Antimicrobial Properties of Silver Nanowires by Aqueous Leaf Extract of Piper betle. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, 26(1)52: 309-313.
- Duran N dan P.D Marcato. 2007. Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles Produced by Fungal Process on Textile Fabrics by Fungal Process on Textie Fabrics and Their Effluent Treatment. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 3(1): 203-208.
- Elumalai, E.K., T.N.K.V. Prasad, P.C. Nagajyothi dan E. David. 2011. A Bird's eye view on Biogenic Silver nanoparticles and Their Application. *Pelagia Research Library*, 2(2): 88-97
- Foliatini, Y. Yulizar dan E. Hafizah. 2015. The Synthesis of Alginate-Capped Silver Nanoparticles under Microwave Irradiation. *J. Math. Fund. Sci*, 47(1), 31 -50.
- Ferrazzano, GF., I. Amato, A. Ingenito, A. Zarelli, G. Pinto, A. Pollio. 2011. Plant Polyphenols and Their Anti- Cariogenic Properties: A Review. *Molecules*, 1(16):1486-1507.
- Ferreres, F., AP. Oliveira, A. Gil-Izquierdo, P. Valentao dan P.B. Andrade. 2014. Piper Betle Leaves: Profiling Phenolic Compounds by HPLC/DAD-ESI/MS (n) and Anti-Cholinesterase Activity, *Phytochemical Analysis*, 25: 453- 460
- Handaya, A., J.A Laksmono dan A Haryono. 2011. Preparasi Koloid Nanosilver menggunakan Stabilizer Polivinil Alkohol dan Aplikasinya sebagai Antibakteri pada Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. *J Kim Ind*, 12(3):202 – 208.
- Haryono, A dan S.B. Harmami. 2010. Aplikasi Nanopartikel Perak pada Serat Katun sebagai Produk Jadi Tekstil Antimikroba. *Jurnal Kimia Indonesia*, 5(1): 1-6.
- Hazarika, D., A. Phukan, E. Saikia dan B. Chetia. 2014. Phytochemical Screening and Synthesis of Silver Nanoparticles Using Leaf Extract of *Rhynchotichum Ellipticum*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(1): 672-674
- Hermiastuti, M. 2013. Analisis Kadar Protein dan Identifikasi Asam Amino pada Ikan Patin (*Pangasius djambal*). Skripsi. Jember: FMIPA Universitas Jember.

- Iravani, S., H. Korbekandi, S.V. Mirmohammadi dan B. Zolfaghari. 2013. Synthesis of Silver Nanoparticles: Chemical, Physical and Biological Methods. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 9(6): 385-406.
- Ismul, A.H., Sumariah, Dahlan M dan Mohtar. 2011. Penentuan struktur kristal al mg alloy dengan difraksi neutron. *J Fisika* 14: 41-48
- Jacob, J dan F.Y.C Boey. 1995. Review Thermal and Non-Thermal Interaction of Microwave Radiation with Materials. *Journal of Materials Science* , 30(1): 5321- 5323
- Jain, A.K. 2011. An Overview of Microwave Assisted Technique: Green Synthesis. *Article WebMed Central*, 225(1):1-15
- Jawetz, E., J.L. Melnick dan E. Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Mikrobiologi Kedokteran Universitas Airlangga, Jakarta: Salemba Medika
- Khan, Z., O. Bashir, J.I. Hussain, S. Kumar, R. Ahmad. 2012. Effects of Ionic Surfactants on the Morphology of Silver Nanoparticles using Paan (*Piper betel*) Leaf Petiole Extract, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*,98:85-90
- Kim, SH., H. Seon, Lee, D.S. Ryu, S.J. Choi dan D.S. Lee. 2011. Antibacterial Activity of Silver-Nanoparticles Against Staphylococcus aureus and Escherichia coli. *Korean J. Microbiol. Biotechnol*, 39(1): 77–85.
- Klug, HP dan LE Alexander. 1974. *X-Ray Diffraction Procedures for Polycrystalline and Amorphous Materials*, 2nd Edition. California: University of California
- Kudle, K.R., M.R. Donda, R. Merugu, Y. Prashanti dan M.P. Pratap Rudra. 2013. Microwave Assisted Green Synthesis of Silver Nanoparticles using Stigmaphyllon littorale leaves, Their Characterization and Anti-Microbial Activity. *International Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 3(1): 13-16.
- Labar, J.L., O. Gezti, G. Safran, B.P Barna, L. Szekely, F. Misjak dan G. Radnoczi. 2009. Process Diffraction: A SAED- Based Method to Analyze Phases Texture in Nano- Crystalline Thin Films in The TEM. *Instrumentation and Methodology*,17(1): 540-541.
- Lee, G.J dan Y.P. Lee. 2008. Microstructures and Linear/ Nonlinear Optical Properties of Monolayered Silver Nanoparticles. *Journal of the Korean Physical Society*, 53(6):3818- 3820.

- Li, Q., Mahendra, S. Lyon, D.Y. Brunet, L. Liga, M.V. Li dan P.J.J. Alvarez. 2008. Antimicrobial Nanomaterials for Water Disinfection and Microbial Control: Potential Applications and Implications. *Water Res*, 42(1): 4591–4602.
- Li, W., C. L Chan, dan H. W. Lueng, 2000. Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry as A Tool for The Characterization of Anthraquinone Derivatives from Chinese Herbal Medicine. *J. Pharm. Pharmacol*, 52(1): 723–729
- Li, W., J. Zhang dan F.L. Tse. 2011. Strategies in Quantitative LC-MS/MS Analysis of Unstable Small Molecules in Biological Matrices. *Biomed Chromatogr*, 25(1-2):258-77.
- Lok, C.N., C.M. Ho, R. Chen, Q.Y. He, W.Y. Yu, H. Sun, P.K. Tam, J.F. Chiu, C.M. Che. 2006. Proteomic Analysis of The Mode of Antibacterial Action of Silver Nanoparticles. *Journal of Proteome Research*, 5: 916–924.
- Maheswari, R., Uma, A.L Prabha, V. Nandagopalan dan V. Anburaja. 2012. Green Synthesis of Silver Nanoparticles by Using Rhizome Extract of *Dioscorea Oppositifolia L.* and Their Anti Microbial Activity Against Human Pathogens. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 1(2): 38-42.
- Majumdar, R., B.G. Bag dan N. Maity. 2013. *Acacia nilotica* (Babool) Leaf Extract Mediated Size-Controlled Rapid Synthesis of Gold Nanoparticles and Study of Its Catalytic Activity. *International Nano Letters*, 3(1): 53-58.
- Makarov, V.V., A.J. Love, O.V. Sinitsyna, S.S. Makarova dan I.V. Yaminsky. 2014. "Green" Nanotechnologies: Synthesis of Metal Nanoparticles Using Plants. *Acta Naturae*, 6(1)20: 35-44.
- Malvern Instruments Limited. 2012. A Basic Guide to Particle Characterization.
- Manikprabhu, N dan K. Lingappa. 2013. Microwave Assisted Rapid and Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using a Pigment Produced by *Streptomyces coelicolor* klmp33. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 1(1):1-5.
- Maria, B.S., A. Devadiga, V.S Kodialbail dan M.B Saiduta. 2014. Synthesis of Silver Nanoparticles using Medicinal *Zizyphus xylopyrus* Bark Extract. *Appl Nanosci*, 8(1):3-5

- Mathur, M. 2014. Properties of Phyto-Reducing Agents Utilize for Production of Nano-Particles, Existing Knowledge and Gaps. *International Journal of Pure and Applied Bioscience*, 2(2): 113-130
- Michalak, A. 2006. Phenolic Compound and Their Antioxidant Activity in Plants Growing Under Heavy Metal Stress. *Polis Journal of Environmental Study*, 15(4): 523-530.
- Mokoginta, E.K., M.R.J. Runtuwene dan F. Wehantouw. 2013. Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Penangkal Radikal Bebas Ekstrak Metanol Kulit Biji Pinang Yaki (*areca vestiaria giseke*). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(44):110.
- Nadagouda, MN., T.F. Speth dan R.S. Varma.2011. Microwave-Assisted Green Synthesis of Silver Nanostructures. *Accounts of chemical research*, 44(7): 469–47
- Naik, L.S., K.P. Mars, P.S. Vennela dan C.V.R. Devi. 2013. Green Synthesis of Silver Nanoparticles using Strawberry Leaf Extract (*Arbutus unedo*) and Evaluation of Its Antimicrobial Activity - A Novel Study. *International Journal of Nanomaterials and Biostructures*.3(13): 47-50.
- Narayana, K.R., M.S. Reddy, M.R. Chaluvadi, D.R. Khrisnha. 2001. Bioflavonoids Classification, Pharmacological, Biochemical Effects and Therapeutic Potential. *Indian Journal of Pharmacology*, 33(1) :2-16.
- Netradevi, C., P. Sivakumar dan S. Renganathan. 2012. Green Synthesis of Silver Nanoparticles using Datura Metel Flower Extract and Evaluation of Their Antimicrobial Activity. *International Journal of Nanomaterials and Biostructures*,2(12): 16-21
- Nordin, M.A.F., W.H.A.W. Harun, F.A. Razak dan M.Y. Musa. 2014. Growth Inhibitory Response and Ultrastructural Modification of Oral-Associated Candidal Reference Strains (ATCC) by *Piper betle* L.extract. *International Journal of Oral Science*, 6(1): 15-21
- Pal, S., Y.K. Tak, dan J.M. Song.2007. Does The Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on The Shape of The Nanoparticle A Study of The Gram-Negative Bacterium Escherichia Coli. *Appl. Environ. Microb*, 73(1): 1712–1720
- Pal, J., M.K. Deb, D.K. Deshmukh. 2013. Microwave-Assisted Synthesis of Silver Nanoparticles using Benzo-18-crown-6 as Reducing and Stabilizing Agent. *Appl Nanosci*, 13(6): 1-4.

- Pin, KY., A.L. Chuah, A.A Rashih, M.P. Mazura, J. Fadzureena, S. Vimala dan M.A. Rasadah. 2010. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Extract of Betel Leaves (*Piper Betle*) from Solvent with Different Polarities. *Journal of Tropical Forest Science*, 22(4): 448-455.
- Prabhu,S dan E.K. Poulouse. 2012. Silver Nanoparticles: Mechanism of Antimicrobial Action, Synthesis, Medical Applications, and Toxicity Effects. *International Nano Letters*, 2(32): 1-10.
- Prabhu, V.V dan C. Guruvayoorappan. 2012. Phytochemical Screening of Methanolic Extract of Mangrove *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. *Der Pharmacia Sinica*, (1): 64-70
- Pradhan, D., K.A. Suri, D.K. Pradhan dan P. Biswasroy. 2013. Golden Heart of the Nature: Piper betle L. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*.1(6): 147-148.
- Prasad, S.B. 2013. Current Understanding of Synthesis and Pharmacological Aspects of Silver Nanoparticles. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*.1(7): 536-547.
- Punuri, J.B., P. Sharma, S. Sibyala, R. Tamuli dan U. Bora. 2012. *Piper betle*-Mediated Green Synthesis of Biocompatible Gold Nanoparticles *International Nano Letters*, 2(18): 1-9.
- Rawle,A. 2010. Basic principles of particle Size analysis. Technical paper of Malvern instruments. Worcestershire,United Kingdom.
- Renugadevi, K dan R.V. Aswini. 2012. Microwave Irradiation Assisted Synthesis of Silver Nanoparticle using *Azadirachta indica* Leaf Extract as A Reducing Agent and In Vitro Evaluation of Its Antibacterial and Anticancer Activity. *International Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 2(2): 5-10.
- Ronson. 2012. UV/Vis/IR Spectroscopy Analysis of Nanoparticles. *NanoComposix*, 1(1): 1-6
- Saha, S., M.M Malik, M.S. Qureshi. 2013. Microwave Synthesis of Silver Nano Particles. *Nano Hybrids*, 4(1); 99-112.
- Saikia, D., 2014. Green Synthesis and Optical Characterizations of Silver Nanoparticles, *International Journal of Latest Research in Science and Technology*, 3(2): 132-135.
- Saware, K., B. Sawle, B. Salimath, K. Jayanthi, V. Abbaraju. 2014. Biosynthesis and Characterization of Silver Nanoparticles using *Ficus benghalensis* Leaf Extract. *International Journal of Research in Engineering and Technology*, 3(15):868-874.

- Shi, N.H., J. Pohorly, G. Mittal, Y. Kakuda, Y.M. Jiang. 2005. Extraction of Polyphenolics from Plant Material for Functional Foods. *Engineering and Food Technology*. 21: 139-66
- Sileikaite,A., I. Prosycevas, J. Puiso, A. Juraitis dan A. Guobiene. 2006. Analysis of Silver Nanoparticles Produced by Chemical Reduction of Silver Salt Solution. *Materials Science (Medžiagotyra.)*, 12(4): 287-291
- Singh, A., S. Jha, G. Srivastava, P. Sarkar, P. Gogoi. 2013. Silver Nanoparticles as Fluorescent Probes: New Approach For Bioimaging. *International Journal of Scientific & Technology Research*, 2(11): 153-157.
- Soitiriou,G.A dan S.E. Pratsinis. 2010. Antibacterial Activity of Nanosilver Ions and Particles. *Environ. Sci. Technol*, 4(1), 5649–5654
- Solomon, S.D., M. Bahadory, A.V. Jeyarajasingam, S.A Rutkowsky, C. Boritz. 2007. Synthesis and Study of Silver Nanoparticles. *Journal of Chemical Education*, 84(2):322-325.
- Surati, M.A., S. Jauhari, K.R. Desai. 2012. A Brief Review: Microwave Assisted Organic Reaction. *Scholars Research Library Archives of Applied Science Research*, 4(1): 645-661.
- Taylor, J.L., C. Lynch dan J.F. Dlugos. 2013. Particle Characterization of UV Blocking Sunscreens and Cosmetics using UV/ Visible Spectroscopy. *PerkinElmer*, 01136201:1-11
- Tripathi, S. 2014. Review Study on Potential Activity of *Piper betle*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(4): 93-98
- Underwood, R.A.D. 2007. *Analisa Kimia Kualitatif*. Jakarta: Erlangga.
- Wyk, B.E dan M. Wink. 2004. Medicinal Plants of The World: An Illustrated Scientific Guide to Important Medicinal Plants and Their Uses. *Timber Press: Portland*, 480-484
- Vimala, R.T.V., G. Sathishkuma dan S.Sivaramakrishnan. 2015. Optimization of Reaction Conditions to Fabricate Nano-Silver Using *Couroupita guianensis* Aubl. (Leaf & Fruit) and Its Enhanced Larvicidal Effect. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*,135(1):110-115.
- Vithiya, K dan S. Sen. 2011. Biosynthesis of Nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2: 2781-2785.
- Wahyudi T, Sugiyana dan Helmy. 2011. Sintesis Nanopartikel Perak dan Uji Aktivitasnya terhadap Bakteri E.Coli dan S.Aureus. *Arena Tekstil*, 26(1): 1-6

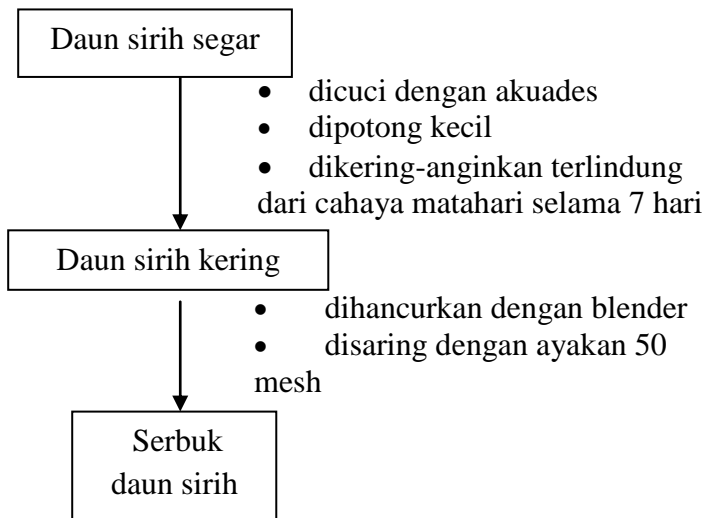
Winarno, F. G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

Ye, M., J. Han, H. Chen, J. Zheng dan D. Guo. 2007. Analysis of Phenolic Compound in Rhubarbs using Liquid Chromatography Coupled with Electrospray Mass Spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom*, 18: 82-91.

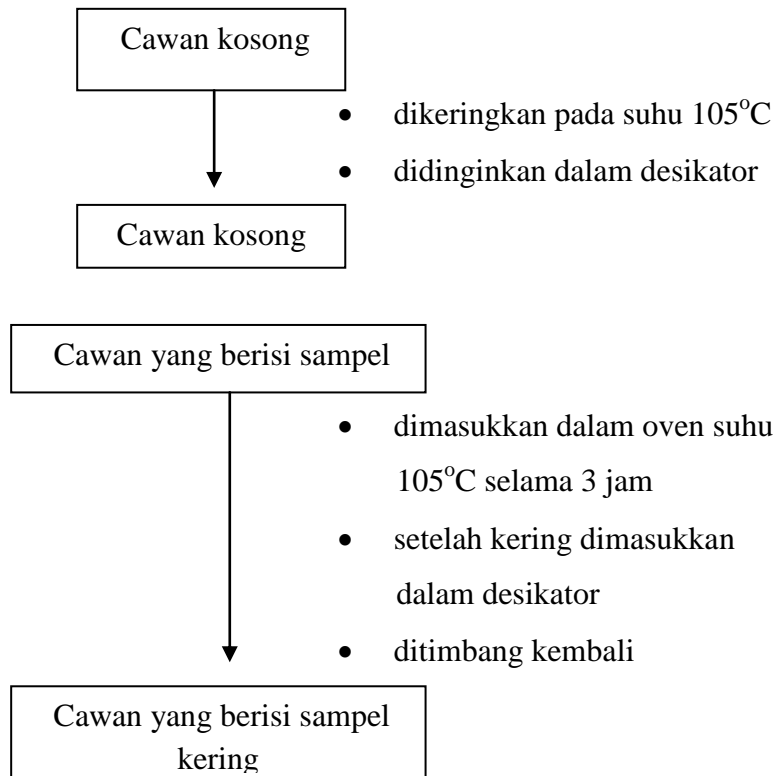
LAMPIRAN

Lampiran 1 Skema Kerja Preparasi Bioreduktor Daun Sirih

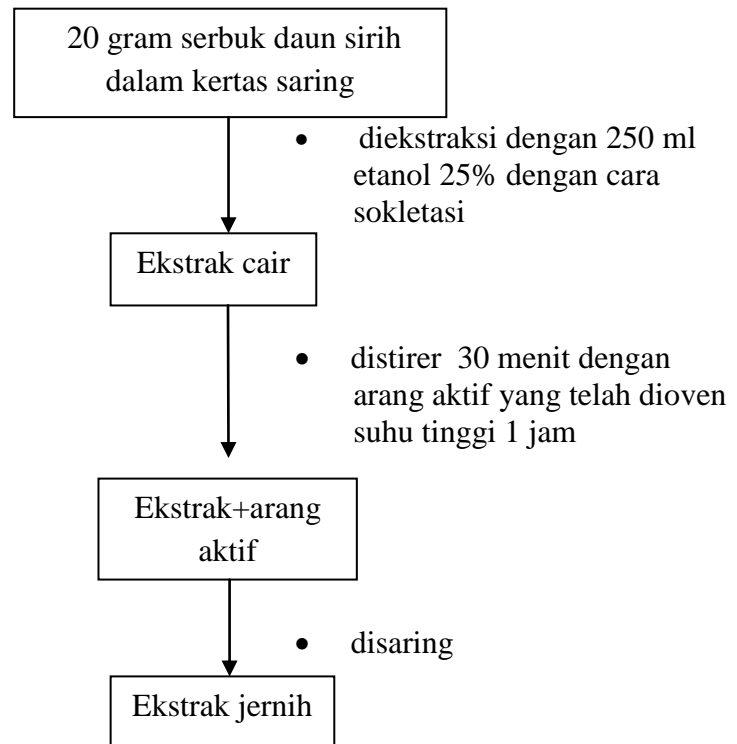
1a. Skema Kerja Penyiapan Sampel



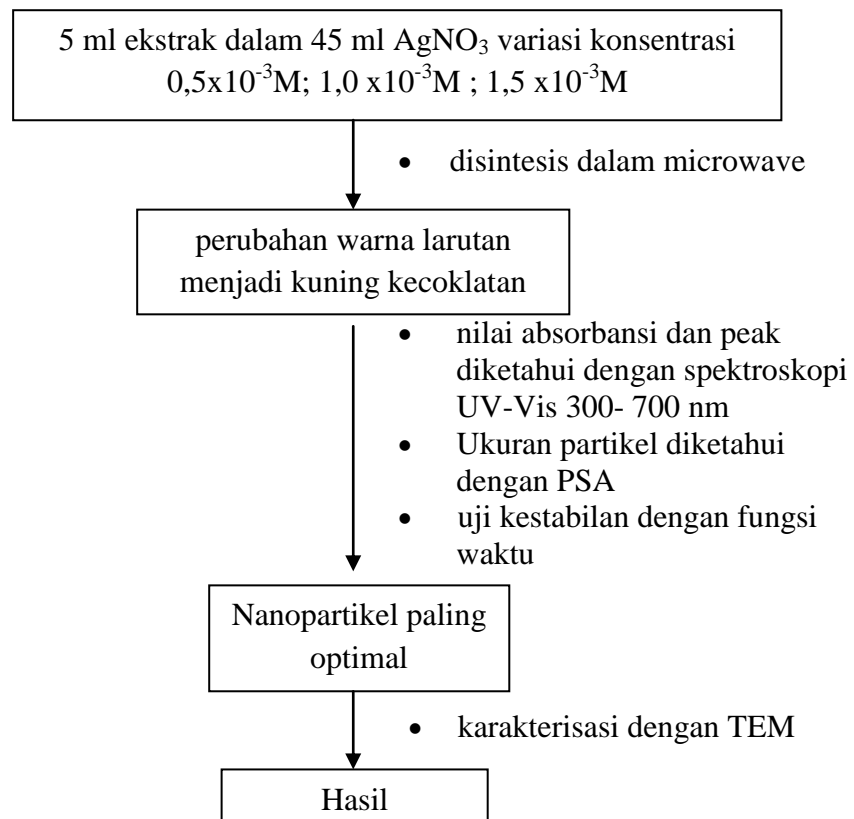
1b. Skema Kerja Penetapan Kadar Air Sampel



1c. Skema Kerja Ekstraksi Bioreduktor Ekstrak Daun Sirih

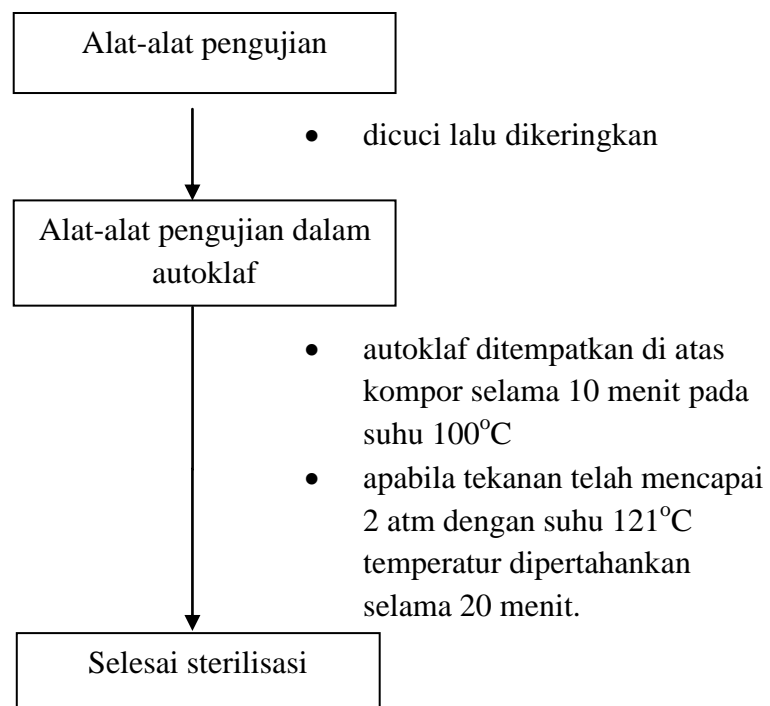


Lampiran 2 Skema Kerja Sintesis dan Karakterisasi Nanopartikel Perak

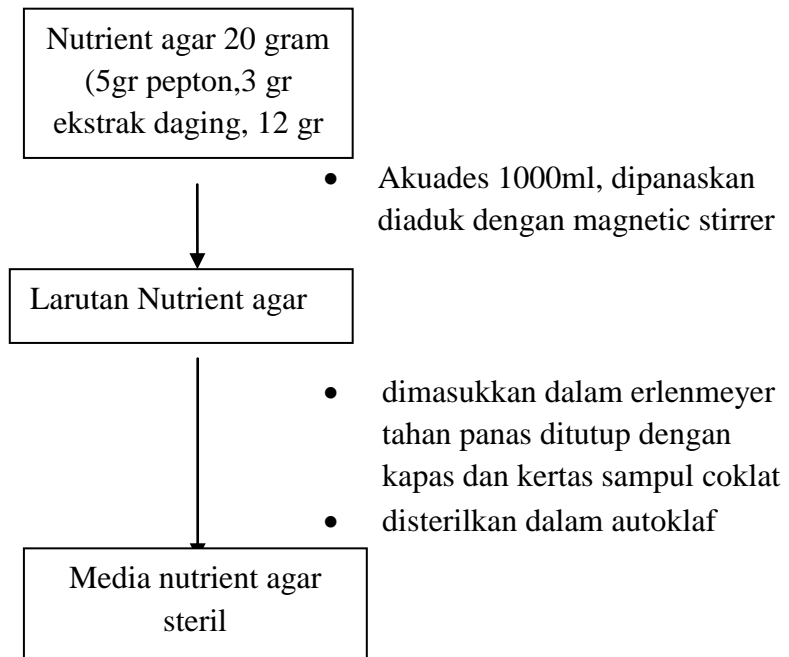


Lampiran 3 Skema Kerja Pengujian Antibakteri

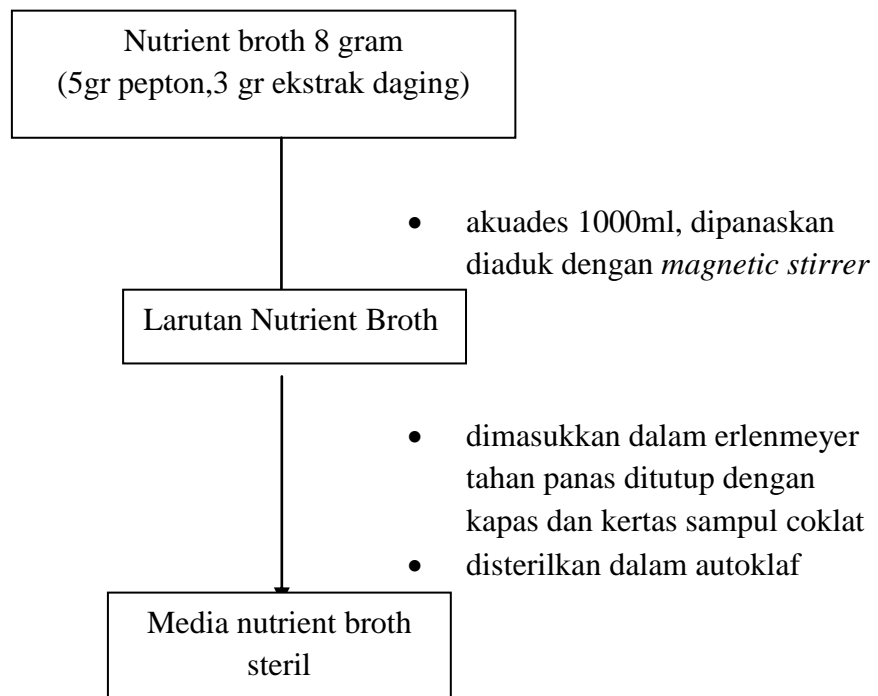
3a. Skema Kerja Sterilisasi Alat dan Bahan



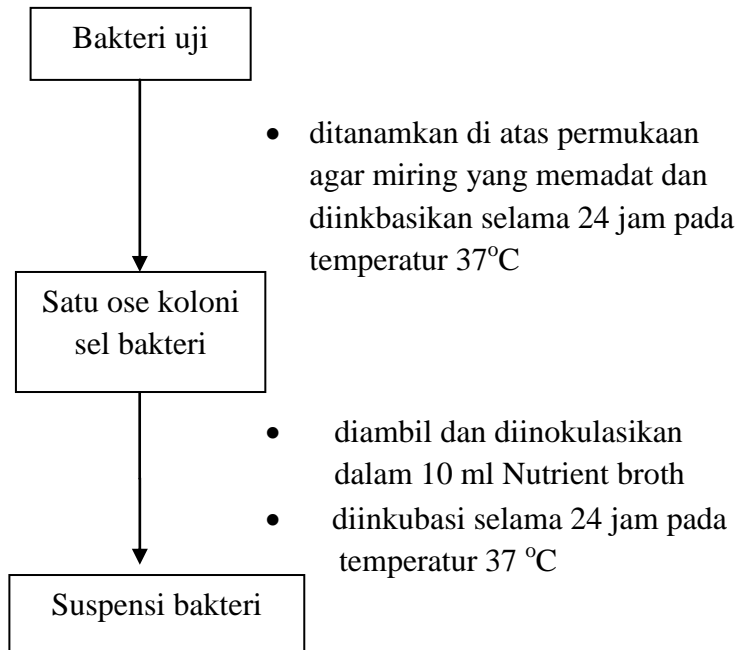
3b. Skema Kerja Pembuatan Media Nutrient Agar



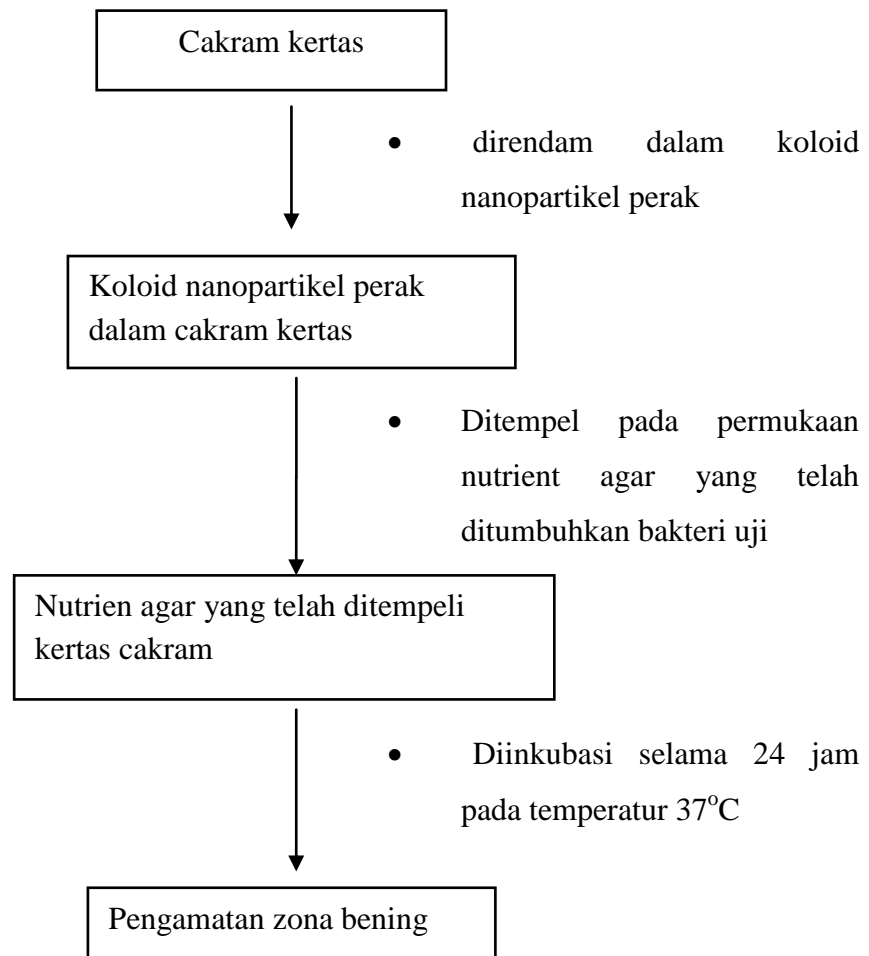
3c. Skema Kerja Pembuatan Media Nutrient Broth



3d. Skema Kerja Penyediaan Bakteri dan Suspensi Bakteri



3f. Skema Kerja Pengujian Antibakteri



Lampiran 4 Perhitungan - perhitungan

4.a Pembuatan etanol 25%

$$V1. \% = V2. \%$$

$$V1. 99,99 \% = 200 \text{ ml. } 25\%$$

$$V1 = 50,005 \text{ ml}$$

4b. Pembuatan larutan 500 ml AgNO_3 $0,5 \cdot 10^{-3}$ M

$$M = \frac{\text{gram}}{Mr} \cdot \frac{1}{L} \cdot \frac{100}{99,99}$$

$$\text{gram} = \frac{M}{2} \cdot Mr \cdot 1,0001$$

$$= \frac{0,0005}{2} \cdot 169.8731 \cdot 1,0001$$

$$= 0,0424 \text{ M}$$

4c. Pembuatan larutan 500 ml AgNO_3 $1 \cdot 10^{-3}$ M

$$M = \frac{\text{gram}}{Mr} \cdot \frac{1}{L} \cdot \frac{100}{99,99}$$

$$\text{gram} = \frac{M}{2} \cdot Mr \cdot 1,0001$$

$$= \frac{0,001}{2} \cdot 169.8731 \cdot 1,0001$$

$$= 0,0849 \text{ M}$$

4d. Pembuatan larutan 500 ml AgNO_3 $1,5 \cdot 10^{-3}$ M

$$M = \frac{\text{gram}}{Mr} \cdot \frac{1}{L} \cdot \frac{100}{99,99}$$

$$\text{gram} = \frac{M}{2} \cdot Mr \cdot 1,0001$$

$$= \frac{0,0015}{2} \cdot 169.8731 \cdot 1,0001$$

$$= 0,0849 \text{ M}$$

4e. Perhitungan uji kadar air serbuk daun sirih

$$a = \text{berat cawan} = 34,7820 \text{ gram}$$

b= berat cawan+sampel sebelum dikeringkan=36,7846

c=berat cawan+sampel setelah dikeingkan=36,75871

$$\begin{aligned} \% \text{ kadar air} &= \frac{b-c}{b-a} \cdot 100\% \\ &= \frac{36,7846 - 36,5871}{36,7846 - 34,7820} \cdot 100\% \\ &= \frac{0,1975}{2,0026} \cdot 100\% \\ &= 9,8621\% \end{aligned}$$

Lampiran 6 Hasil Sintesis Nanopartikel Perak

6.a Hasil Sintesis Konsentrasi AgNO₃ 0,5 mM



6.b Hasil Sintesis Konsentrasi AgNO₃ 1 mM

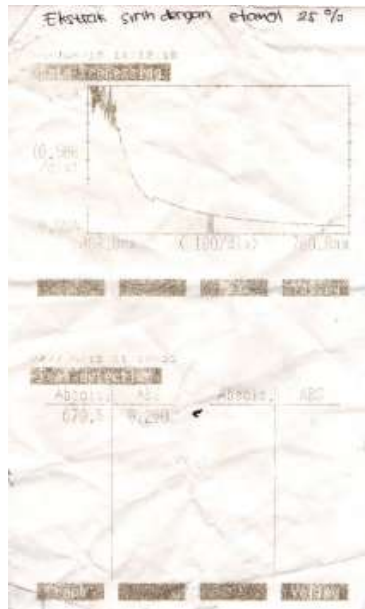


6.b Hasil Sintesis Konsentrasi AgNO₃ 1,5 mM

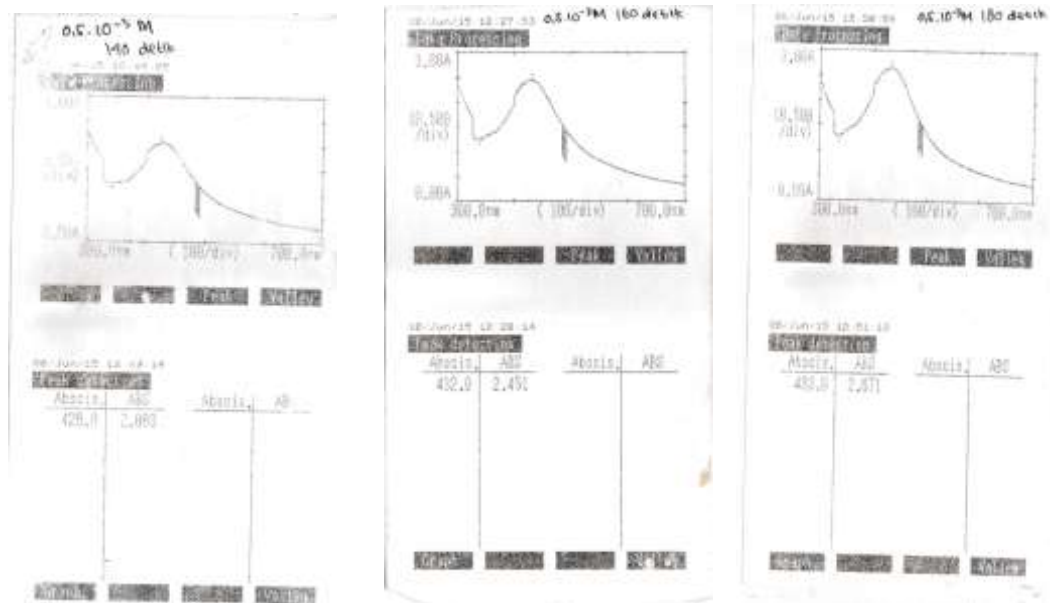


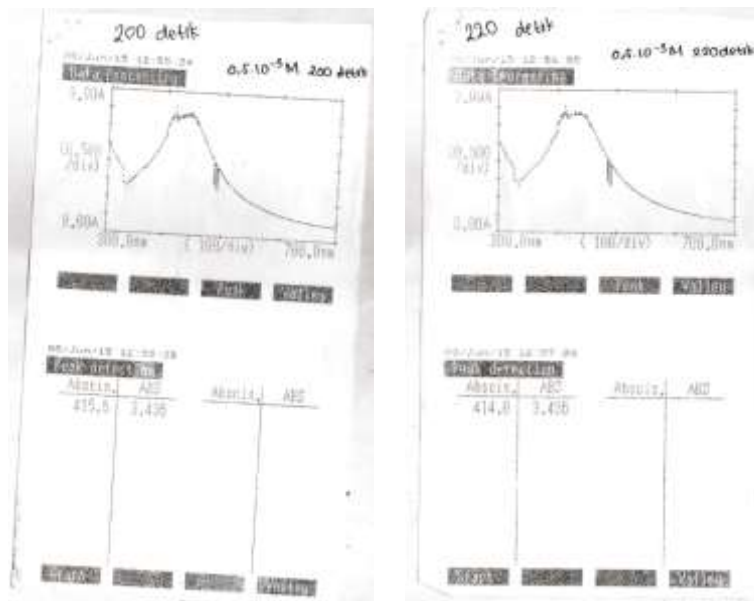
Lampiran 7 Hasil Karakterisasi Spektroskopi UV-Vis

7.a Spektrum UV-Vis Ekstrak Daun Sirih

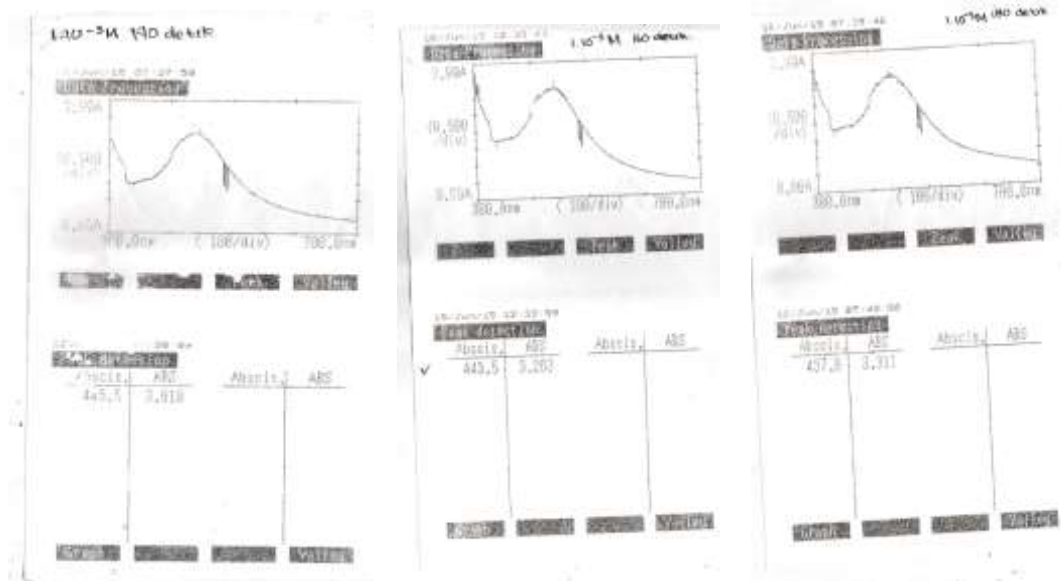


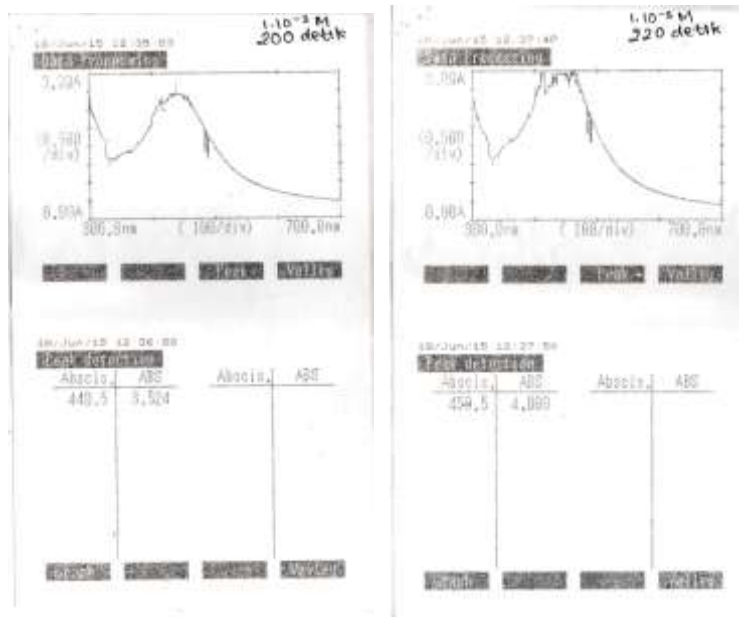
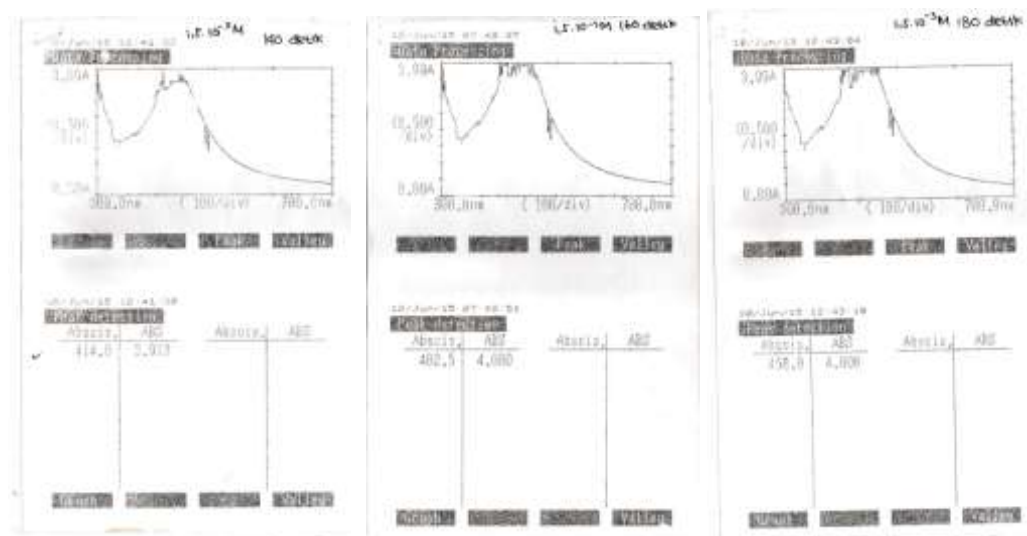
7. b Spektrum UV-Vis Variasi Konsentrasi AgNO_3 0,5 mM

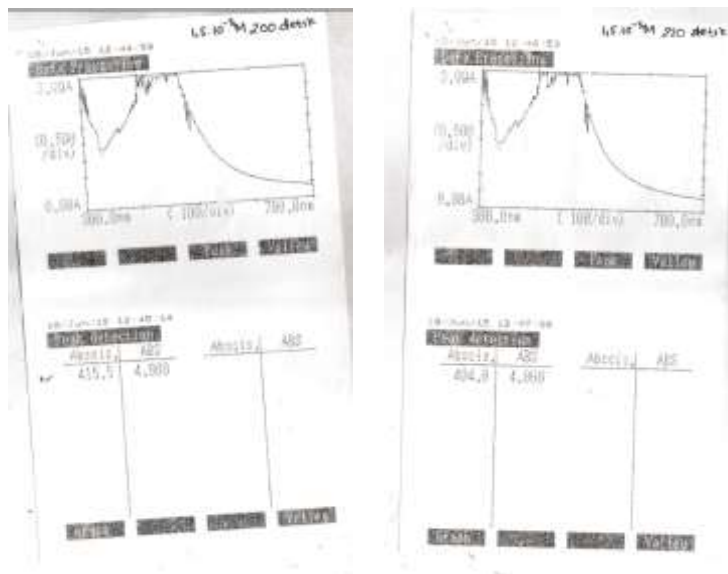




7.c Spektrum UV-Vis Variasi Konsentrasi AgNO₃ 1 mM



7.d Spektrum UV-Vis Variasi Konsentrasi AgNO_3 1,5 mM



Lampiran 8 Hasil Karakterisasi PSA

Kode Sampel	Dx10(nm)	Dx50(nm)	Dx90(nm)	D[4,3](nm)
A1	13,8	24,7	41,6	25,8
A2	13,8	24,7	43,1	38,0
A3	13,1	22,2	40,9	34,5
A4	14,5	22,5	37,1	21,6
A5	13,7	24,3	46,0	25,2

Kode Sampel	Dx10(nm)	Dx50(nm)	Dx90(nm)	D[4,3](nm)
B1	15,8	27,5	45,6	31,8
B2	16,8	28,7	47,1	35,0
B3	16,1	30,2	52,9	37,5
B4	14,5	27,5	57,1	37,6
B5	17,7	29,3	59,0	42,2

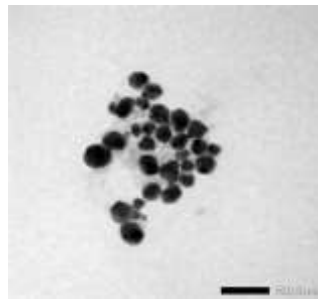
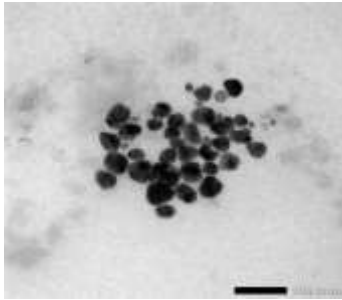
Kode Sampel	Dx10(nm)	Dx50(nm)	Dx90(nm)	D[4,3](nm)
B1	18,2	32,5	46,6	34,8
B2	18,8	34,7	47,1	38,0
B3	23,1	32,2	55,9	45,5
B4	24,5	37,5	71,1	61,6
B5	23,7	34,3	69,0	59,2

Keterangan : A=Konsentrasi AgNO₃ 0,5 mM

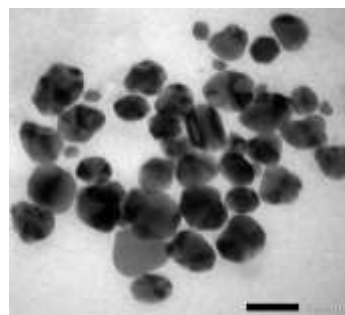
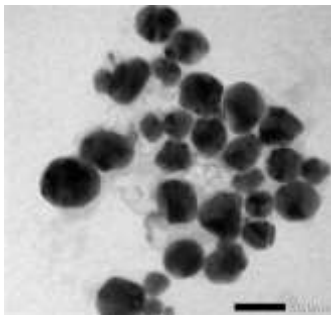
B=Konsentrasi AgNO₃ 1 mM

C=Konsentrasi AgNO₃ 1,5 mM

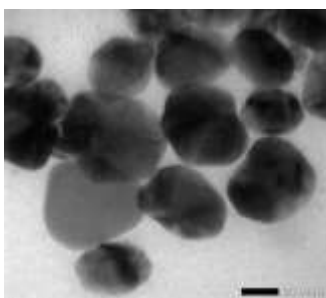
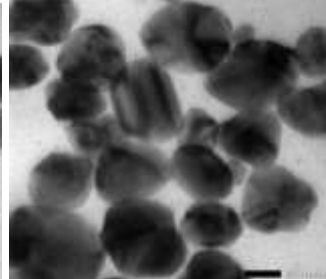
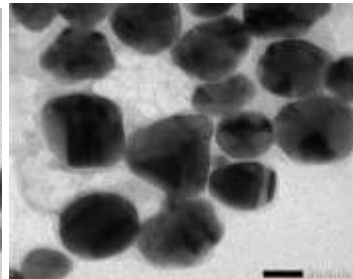
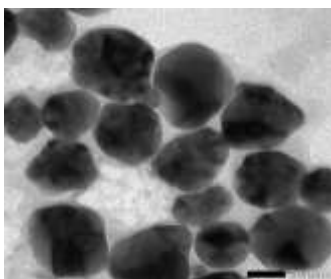
1=140 detik, 2=160 detik, 3=180 detik, 4=200 detik, 5=220 detik

Lampiran 9 Gambar penampakan hasil karakterisasi TEM

Perbesaran 100.000x



Perbesaran 200.000x



Perbesaran 500.000x

Lampiran 10 Pengukuran nanopartikel dengan TEM menggunakan imageJ

Results						
File	Edit	Font	Results			
	Area	Mean	Min	Max	Angle	Length
1	5.934	88.718	70.813	124.000	-59.036	18.492
2	9.152	39.478	14.444	124.000	-2.545	28.570
3	15.689	63.362	20.955	175.000	-5.194	49.040
4	5.733	110.707	80.250	167.000	-2.045	17.771
5	11.767	51.928	11.776	205.000	-2.961	36.836
6	12.471	81.386	40.099	158.000	-6.546	38.944
7	4.023	123.324	93.819	170.034	-41.878	12.376
8	4.626	101.167	78.486	157.028	-35.096	14.276
9	10.459	52.629	19.796	124.434	-2.246	32.555
10	16.293	52.649	0.815	127.668	-54.130	51.070
11	16.796	70.688	40.133	176.442	-65.442	52.788
12	5.230	113.387	81.554	180.963	-29.604	16.077
13	18.405	48.661	23.102	111.977	-28.109	57.764
14	13.376	58.071	31.060	100.724	3.468	41.816
15	15.991	45.538	14.188	146.244	-80.895	50.118
16	18.405	56.893	7.202	164.216	-117.832	57.764
17	10.862	43.714	6.950	143.581	-12.470	33.802
18	9.554	59.619	28.146	117.632	-68.085	29.836
19	15.287	40.145	9.857	137.169	-42.044	47.771
20	13.376	91.273	40.523	215.221	-88.698	41.757
21	16.494	31.571	0.062	119.604	23.106	51.755
22	3.922	89.321	71.810	124.093	26.565	11.940
23	17.399	105.447	90.124	177.129	-45.470	54.576
24	13.376	60.052	17.138	147.040	-60.309	41.965
25	13.074	55.933	20.493	154.245	10.265	40.942
26	14.684	61.775	14.227	115.113	21.435	45.971
27	16.293	51.567	8.516	180.658	-55.620	51.026
28	12.571	69.653	22.435	134.874	-64.259	39.298
29	14.784	61.113	16.804	156.328	-11.848	46.176
30	11.163	55.048	16.643	164.617	-16.949	35.010

Lampiran 11 JCPDS Ag

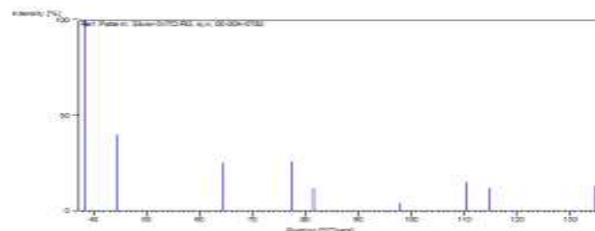
Name and formula						
Reference code:	00-004-0783					
Mineral name:	Silver-3C sym					
PDF index name:	Silver					
Empirical formula:	Ag					
Chemical formula:	Ag					
Crystallographic parameters						
Crystal system:	Cubic					
Space group:	Fm-3m					
Space group number:	225					
a (Å):	4.0862					
b (Å):	4.0862					
c (Å):	4.0862					
Alpha (°):	90.0000					
Beta (°):	90.0000					
Gamma (°):	90.0000					
Calculated density:	10.50					
Measured density:	10.50					
Volume of cell:	68.23					
Z:	4.00					
hkl:	5.20					
Subfiles and Quality						
Subfiles:	Inorganic Mineral Alloy, metal or intermetallic Common Phase Educational pattern Forensic NBS pattern Indexed (I)					
Quality:						
Comments						
Color:	Light gray metallic					
General comments:	Purity >99.999%. Opaque mineral optical data on specimen from Great Bear Lake, Canada: RR ₂₀ =94.1, Disp.=16, YR ₁₀₀ 95-95, Color values = 3.1, .321, 94.2, Ref.: 188 Geometric w. for Mineralogy 08C.					
Sample source:	Sample obtained from Johnson Matthey Company, Ltd.					
Analysis:	Spectrographic analysis indicated faint traces of Cu, Fe and Co.					
Optical data:	B=0.181					
Additional pattern:	See ICSD 64706 (PDF 87-597).					
Melting point:	960.6°					
Temperature:	Pattern taken at 27 C.					
References						
Primary reference:	Swanson, Tatge., <i>Natl. Bur. Stand. (U.S.), Circ. 539, I, 23, (1953)</i>					
Optical data:	Finchell., <i>Elements of Optical Mineralogy, II, 17</i>					
Peak list						
No.	h	k	l	d (Å)	2θcalc(deg.)	I (%)
1	1	1	1	2.75900	38.117	100.0
2	2	0	0	2.04400	44.279	40.0
3	2	2	0	1.44500	64.428	25.0

Date: 26/01/2015 Time: 17:03:38

File: Untitled1.CAF

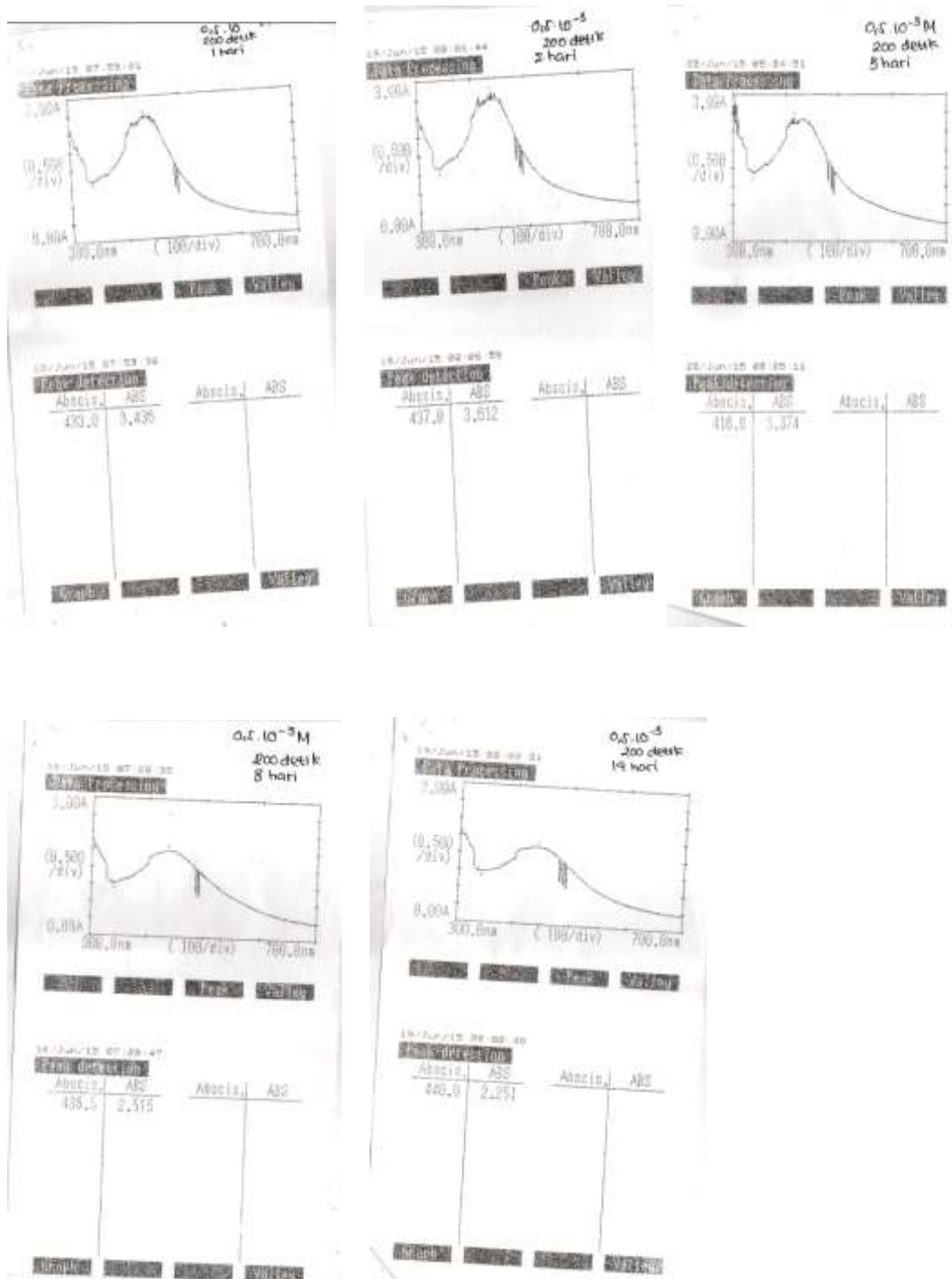
User: junfu

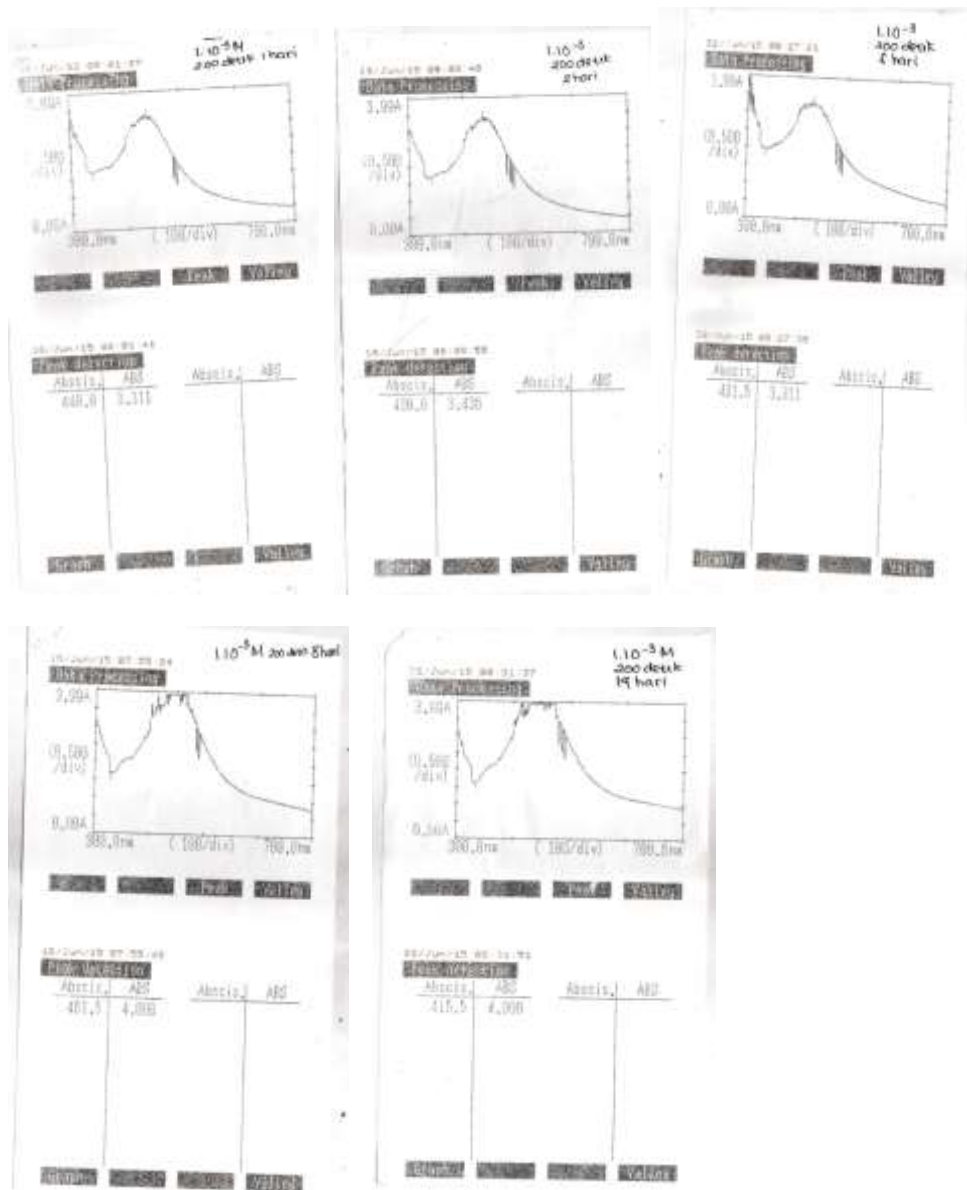
4	3	1	1	1.23100	77.475	24.0
5	2	2	2	1.17960	81.539	12.0
6	4	0	0	1.02150	97.891	4.0
7	3	3	1	0.93750	110.501	15.0
8	4	2	0	0.91370	114.328	12.0
9	4	2	2	0.83410	134.890	13.0

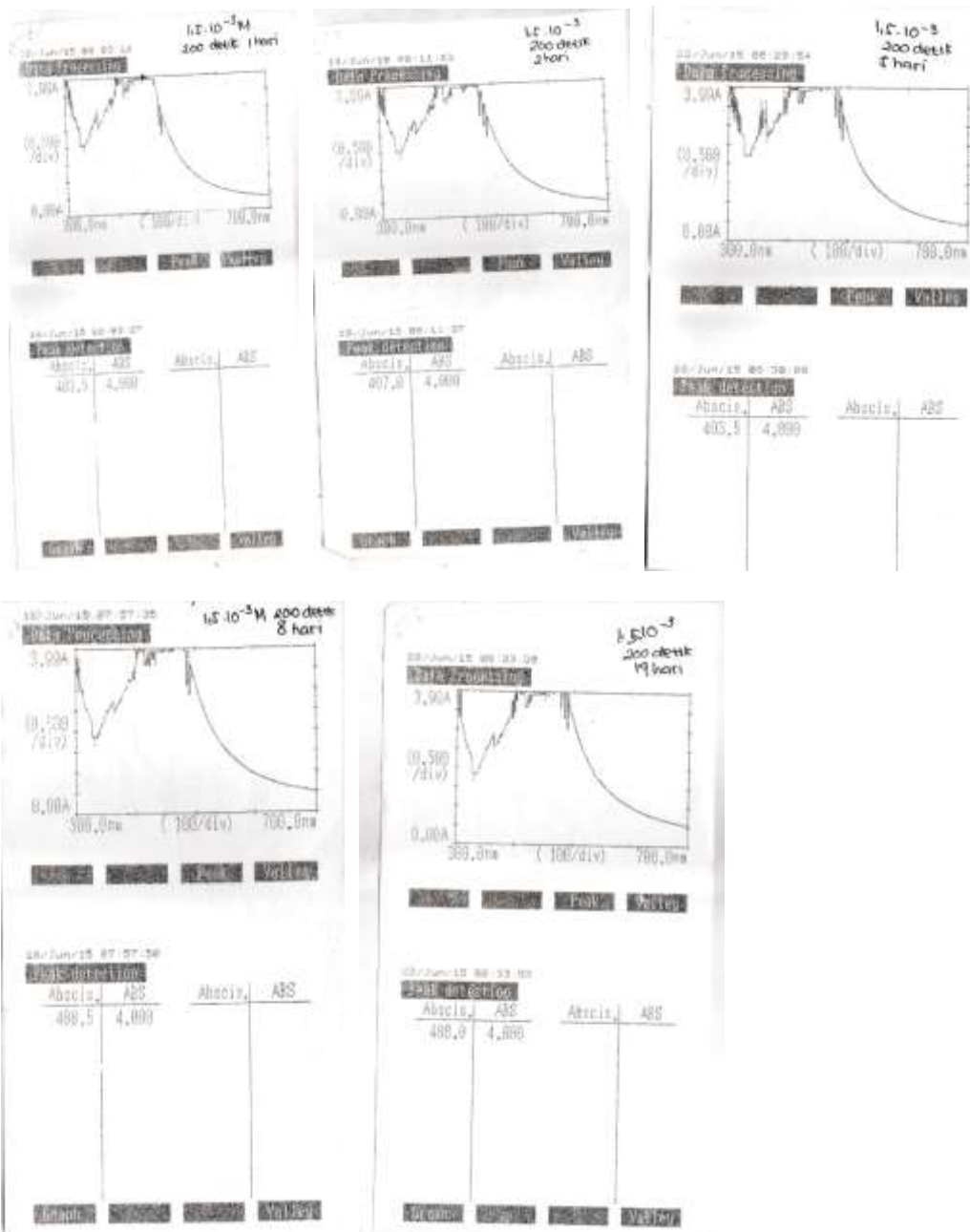
Stick Pattern

Lampiran 12 Pengukuran Kestabilan dengan Spektrofotometer UV-Vis

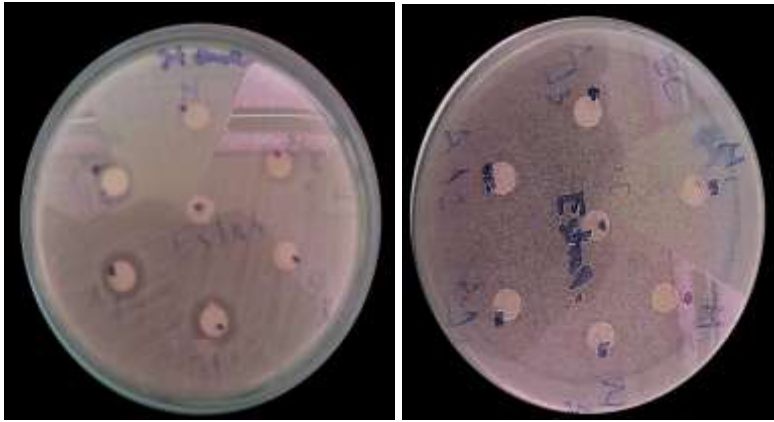
12.a Kestabilan nanopartikel perak Konsentrasi $0,5 \text{ mM}$



12.b Kestabilan nanopartikel perak Konsentrasi AgNO_3 1 mM

12.c Kestabilan nanopartikel perak Konsentrasi AgNO_3 1,5 mM

Lampiran 13 Hasil pengujian antibakteri



Lampiran 14 Dokumentasi penelitian



Daun sirih segar



daun sirih setelah pengeringan



Penghalusan daun kering



Pengayakan



serbuk daun sirih lolos 50 mesh



oven memert untuk uji kadar air Ekstraksi dengan Soklet



Stirer dengan arang aktif

penyaringan



Preparasi sintesis



Sintesis dengan microwave



Spektrometer UV-Vis