

GREEN SYNTHESIS NANOPARTIKEL PERAK MENGGUNAKAN EKSTRAK DAUN BAYAM DURI (*Amaranthus spinosus* L.) DAN AKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIBAKTERI

Setya Restu Pambudi^{1*}), Ismi Rahmawati²⁾, Teuku Nanda Saiffulah Sulaiman³⁾

¹ Program studi S2 Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta, Jawa Tengah

² Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta, Jawa Tengah

³ Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Daerah Istimewa Yogyakarta

*Email: setyarestupambudi@gmail.com

Received: 09-12-20243

Accepted: 27-06-2024

Published: 20-08-2024

INTISARI

Daun bayam duri mengandung senyawa fenolik. Gugus hidroksil pada senyawa fenolik dapat digunakan dalam sintesis nanopartikel perak. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui waktu dan pH pembuatan yang optimal ekstrak etanol daun bayam duri dalam mereduksi ion perak (Ag^+) menjadi nanopartikel perak (Ag^0) dilihat dari respon panjang gelombang maksimal dan nilai absorbansi menggunakan metode *Central Composite Design*, karakteristik hasil sintesis serta aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*. Ekstraksi dilakukan dengan pelarut etanol 80%. Optimasi proses pembuatan nanopartikel menggunakan *Central Composite Design* menghasilkan 13 percobaan dengan waktu pembuatan dan pH sebagai variabel tergantung, respon *Surface Plasmon Resonance* (SPR) dari panjang gelombang maksimal serta absorbansi adalah variabel bebas. Pengamatan terbentuknya nanopartikel perak dilihat dari nilai SPR. Karakterisasi nanopartikel dilakukan dengan melihat ukuran partikel, distribusi, kestabilan, morfologi permukaan, dan komposisi partikel. Pengamatan aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun bayam duri memiliki metabolit sekunder dengan golongan flavonoid, alkaloid, tanin, fenol dan saponin. $AgNO_3$ dapat direduksi menjadi nanopartikel perak pada konsentrasi $AgNO_3$ 1 mM dengan perbandingan volume ekstrak 3 mL dan volume $AgNO_3$ 1 mM 30 mL, suhu 70°C, waktu pembuatan 60 menit, dan pH 9,05. Ukuran partikel koloid AgNPs daun bayam duri sebesar $90,4 \pm 1,2$ nm, nilai zeta potensial $-35,633 \pm 0,478$ mV. Morfologi kristal berbentuk tidak seragam dengan ukuran kristal rata-rata sebesar 136 nm. Komposisi kimia menunjukkan unsur silver (Ag) mendominasi dengan konsentrasi berat 67,868% dan konsentrasi atom 49,685 % puncak sepektrum di 3 KeV. AgNPs mempunyai kemampuan dalam menghambat *Staphylococcus aureus* ditunjukkan dengan diameter zona hambat sebesar 11 mm dan *Escherichia coli* sebesar 10,06 mm.

Kata kunci: *Central Composite Design*, Daun bayam duri, *Escherichia coli*, *Green synthesis* nanopartikel perak, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

Spinach leaves contain flavonoids and phenolic compounds. The hydroxyl groups in phenolic compounds can be used in the synthesis of silver nanoparticles. The aim of this research is to determine the optimal time and pH for reducing silver ions (Ag^+) into silver nanoparticles (Ag^0) with ethanol extract of spinach leaves as bioreductor seen from the maximum wavelength response and absorbance value using the Central Composite Design method, characteristics of the synthesis

results and activity antibacterial *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. Extraction using maceration method in 80% ethanol. Optimization of synthesis using Central Composite Design resulted in 13 experiments with time reaction and pH as dependent variables, Surface Plasmon Resonance (SPR) response wavelength and absorbance as independent variables. Formation of silver nanoparticles can be seen from the SPR. Characterization of nanoparticles at particle size, distribution, stability, surface morphology and particle composition. Observation of antibacterial activity was using a diffusion method. Result screened phytochemicals spinach extract contains flavonoids, phenolics, tannins, and saponins. The ethanol extract spinach leaves can reduce AgNO_3 into silver nanoparticles at concentration of 1 mM AgNO_3 with ratio of 3 mL extract and 30 mL AgNO_3 , temperature 70°C , time 60 minutes, and pH 9.05. The colloidal particle size of AgNPs is 90.4 ± 1.2 nm, the zeta potential -35.633 ± 0.478 mV. The particle morphology of AgNPs was non homogeneous with an average particle size 136 nm. The chemical composition shows that the silver (Ag) element dominates with a weight concentration of 67.868% and an atomic concentration of 49.685% of the spectrum peak at 3 KeV. AgNPs have the ability to inhibit *Staphylococcus aureus* as shown by the inhibitory zone diameter of 11 mm and *Escherichia coli* of 9.7 mm.

Keywords: Central Composite Design, Spinach leaves (*Amaranthus spinosus* L.), *Escherichia coli*, Green synthesis silver nanoparticle, *Staphylococcus aureus*.

Corresponding author:

Nama : Setya Restu Pambudi

Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Alamat Institusi : Universitas Setia Budi Jl. Let. Jend. Sutoyo, Mojosongo, Surakarta, 57127

E-mail : setyarestupambudi@gmail.com

PENDAHULUAN

Nanopartikel banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang seperti biomedis, lingkungan, perawatan kesehatan, pertanian dan pangan, industri, elektronika, serta energi (Taran *et al.*, 2021). Koloid nanopartikel perak (AgNP) dalam bidang medis terbukti dapat digunakan sebagai antibakteri (Zhang *et al.*, 2021). Mekanisme antibakteri nanopartikel perak yaitu menembus dinding sel bakteri kemudian diikuti oleh perubahan struktur membran sel yang mengakibatkan kematian bakteri (Yin *et al.*, 2020). Penelitian Jena *et al.* (2020) menyatakan bahwa penggunaan perak yang dibuat dalam koloid nanopartikel dapat meningkatkan aktivitas antibakteri serta efektif dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Metode yang dapat digunakan untuk sintesis nanopartikel ada tiga yaitu kimia, fisika, dan pendekatan biologi. Penggunaan metode kimia dan fisika memiliki beberapa kelemahan yaitu penggunaan bahan kimia yang dapat membahayakan lingkungan, bahan kimia mahal, konsumsi energi yang tinggi serta peralatan yang rumit (Alharbi, Alsubhi and Felimban, 2022). *Green synthesis* nanopartikel merupakan sintesis dengan pendekatan biologi. *Green synthesis* dilakukan menggunakan tumbuhan, mikroorganisme dan enzim. Kelebihan sintesis menggunakan pendekatan *green synthesis* yaitu *eco-friendly*, tidak memerlukan peralatan yang rumit, murah, ketersediaan bahan baku yang mudah didapat serta dapat diperbaharui.

Biosintesis nanopartikel dengan menggunakan tumbuhan sebagai bioreduktor berhubungan dengan kandungan senyawa metabolit sekunder pada tanaman tersebut (Gul *et al.*, 2021). Sintesis nanopartikel perak dengan metode *green synthesis* yang memanfaatkan ekstrak tanaman sebagai agen pereduksi telah banyak dilaporkan. Sintesis nanopartikel perak dengan reduktor ekstrak daun bayam hijau (*Amaranthus retroflexus*) berhasil dilakukan oleh Bahrami-Teimoori *et al.* (2017), Taylor *et al.* (2020) ekstrak daun kemangi (*Ocimum canum*), Ke-Xin *et al.* (2023) menggunakan ekstrak rumput laut coklat, ekstrak daun pucuk idat (*Cratoxylum glaucum*) dilakukan oleh Fabiani *et al.* (2019).

Latif *et al.* (2019) menyebutkan bahwa flavonoid, alkaloid, terpenoid, asam amino, senyawa fenolik dan komponen biomolekul yang mengandung gugus hidroksil pada ekstrak tanaman dapat berfungsi sebagai reduktor ion perak. Mamuru dkk. (2019) dalam penelitiannya mengungkapkan bahwa bayam duri mengandung senyawa minyak esensial, seskuiterpen, diterpene, triterpenoid, flavonoid dan fenolik. Adanya kandungan fenolik pada daun bayam duri meyakinkan bahwa gugus *hydroxyl* yang terdapat dalam daun bayam duri dapat digunakan sebagai reduktor dalam proses sintesis nanopartikel perak. Penelitian Tuyen (2019) mengungkapkan ekstrak etanol bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) mengandung flavonoid yaitu rutin. Mekanisme pembentukan nanopartikel menggunakan bioreduktor tanaman didasarkan pada metode *bottom-up* yaitu gugus *hydroxyl* akan mendonorkan elektron ke ion perak (Ag^+) hal ini menyebabkan ion perak (Ag^+) mengalami *nukleasi* atau penggabungan yang menyebabkan terbentuknya logam nanopartikel perak Ag^0 pada ukuran tertentu (Marslin dkk., 2018).

Modifikasi variasi pembuatan nanopartikel perak secara biologi dapat dilakukan dengan beberapa cara diantaranya adalah dengan variasi konsentrasi reduktor, konsentrasi prekursor, suhu sintesis, waktu pembuatan dan pH pembuatan. Optimasi dalam penelitian ini menggunakan *Response surface methodology* (RSM). *Central Composite Design* (CCD) termasuk ke dalam salah satu metode RSM. Kelebihan CCD yaitu memiliki uji coba yang lebih sedikit dengan level yang lebih banyak dibandingkan dengan desain faktorial penuh (Hidayat dkk. 2021). Penelitian sintesis nanopartikel perak menggunakan CCD pernah dilakukan dengan menggunakan berbagai ekstrak tanaman yang mengandung senyawa flavonoid antara lain Nikaeen *et al.* (2020) menggunakan ekstrak *Plantago major*, Dwiastuti dkk. (2022) menggunakan ekstrak air *Manihot esculenta crantz*, Elmayah *et al.*, (2022) menggunakan *Talaromyces stipitatus*, Mardiyanto, Apriani and Heylken (2023) menggunakan ekstrak biji pinang. Belum adanya laporan optimasi menggunakan metode *Central Composite Design* pada sintesis nanopartikel perak menggunakan ekstrak daun bayam duri dengan faktor waktu sintesis dan pH perlu dilakukan untuk mengetahui proses pembuatan yang optimal.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu set alat maserasi, satu set evaporator, pH meter, satu set peralatan sentrifuge, *magnetic stirrer hot plate*, spektrofotometer *UV-Vis*, *centrifuge*, *Particle Size Analyzer* (PSA), SEM-EDS.

Bahan Kimia dan Mikroorganisme

Bahan yang digunakan yaitu garam logam $AgNO_3$ p.a, natrium hidroksida p.a, asam nitrat, aqua bidestilata, bakteri *Staphylococcus aureus*, bakteri *Escherichia coli*, media nutrient agar, media *Brain Heart Infusion* (BHI), media *Mueller Hinton Agar* (MHA), ekstrak etanol 80% daun bayam duri.

Proses Sintesis Nanopartikel Perak

Sintesis nanopartikel dilakukan dengan bantuan menggunakan alat *hot plate magnetic stirrer*. Warna koloid nanopartikel diamati secara visual. SPR nanopartikel perak yang terbentuk dikonfirmasi dengan spektrofotometer *UV-Vis* pada *range* panjang gelombang 400 – 450 nm (Al Azad *et al.*, 2017). Konsentrasi ekstrak dalam uji sebesar 1 % (b/v). Suhu pembuatan yaitu 70°C konsentrasi $AgNO_3$ 1 mM dan ekstrak daun bayam duri perbandingan volume $AgNO_3$ 1 mM 30 mL dan ekstrak 3 mL (10:1) didapatkan dari hasil uji pendahuluan. Komposisi yang didapat selanjutnya digunakan sebagai komposisi pada optimasi pembuatan nanopartikel perak menggunakan metode *Central Composite Design*.

Pembuatan Rancangan *Central Composite Design*

Pengamatan panjang gelombang dan nilai absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 300 – 700 nm. Optimasi proses pembuatan nanopartikel daun bayam duri dilakukan terhadap dua variabel tergantung yaitu waktu pembuatan dan pH. Variabel bebas adalah respon panjang gelombang maksimal dan nilai absorbansi. Rancangan desain *eksperimen* dapat dilihat pada tabel I.

Tabel I. Rancangan *experiment Central Composite Design*

Faktor	satuan	(-α)	(-1)	(0)	(+1)	(+α)
Waktu	Menit	5,68	15	37.5	60	69,31
pH		5,17	6	8	10	10,828

Pengukuran Respon dan Optimasi Data

Tahap pertama dalam penentuan komposisi optimasi pembuatan dengan *software design expert 13* adalah verifikasi model yang meliputi nilai *Adjusted R²* dan *predicted R²*, *R²*, serta nilai dari *adeq Precision*. Tahapan kedua adalah analisis respon panjang gelombang dan absorbansi terhadap pengaruh waktu pembuatan dan pH pembuatan menggunakan uji ANOVA dengan melihat kesesuaian model dengan koefisien determinasi serta nilai *lack of fit* serta pengamatan data dengan *Counter plot 2D* dan *3D surface*. Tahap ketiga adalah penentuan kondisi optimal pembuatan dilakukan pengujian ulang untuk memastikan nilai respon aktual berada dalam kisaran nilai respon atau *output* dari diprediksi *software*. Penentuan titik optimal dalam penelitian dilihat dari nilai *desirability*. Respon *actual* (hasil percobaan) yang didapatkan selanjutnya dimasukan kembali dalam *software Design Expert 13* dan di *range* batas atas PI 95 % dan batas bawah CI 95 %.

Pengumpulan dan Pemurnian Nanopartikel Perak Hasil Sintesis

Langkah pemurnian dan pengumpulan nanopartikel perak hasil sintesis dari ekstrak bayam duri yaitu buat sebanyak 1000 mL koloid nanopartikel perak, selanjutnya untuk memisahkan koloid dengan pengotor dilakukan dengan sentrifugasi pada 2000 RPM selama 10 menit. Langkah selanjutnya adalah memisahkan suspensi dan *pellet*. Hasil pemisahan didapatkan *pellet* selanjutnya dicuci sebanyak tiga kali dengan aquabides. *Pellet* hasil pemurnian dilakukan pemisahan lagi menggunakan metode sentrifugasi pada 6.000 RPM selama 120 menit bertujuan untuk pengumpulan nanopartikel perak (Asnaashari Kahnouji *et al.*, 2019). Partikel yang telah dicuci, disimpan semalaman ke dalam desikator untuk mendapatkan serbuk padat. Rendemen hasil nanopartikel perak kemudian digunakan untuk tahap karakterisasi dan pengujian antibakteri.

Karakterisasi Nanopartikel Perak Hasil Optimasi

Nanopartikel perak yang terbentuk dikonfirmasi menggunakan spektrofotometer *UV-Vis*. Instrumen *Particle Size Analyzer* (PSA) digunakan untuk pengamatan terhadap ukuran partikel, keseragaman dan kestabilan koloid hasil optimasi. Instrumen *Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-ray Spectroscopy* (SEM-EDS) digunakan untuk pengamatan morfologi dan komposisi kimia yang terkandung dalam sampel.

Pengamatan Aktivitas Antibakteri

Pengujian dilakukan dengan metode difusi menggunakan *paper disk* dengan diameter 6 mm. Langkah awal pengujian dilakukan dengan mengencerkan serbuk nanopartikel hasil sintesis dengan perbandingan 1:1 (b/v) dengan aquadest steril. Larutan yang digunakan sebagai pembanding terdiri dari ekstrak etanol daun bayam duri, serta larutan AgNO₃ 1 mM dengan konsentrasi yang sama saat digunakan untuk sintesis nanopartikel perak, kontrol positif menggunakan kloramfenikol pada bakteri *Escherichia coli* dan vancomycin pada bakteri *Staphylococcus aureus*, kontrol negatif dalam penelitian ini adalah *aqua bidestilata* steril. Sampel yang telah diinokulasi bakteri uji, cawan petri didiamkan selama 30 menit, kemudian dibungkus tanpa dibalik. Tahap inkubasi dilakukan pada suhu 37° C selama 48 jam. Pengamatan hasil dilakukan dengan bantuan alat jangka sorong dengan menentukan ukuran zona hambat sekitar *paper disk*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil percobaan berdasarkan *Central Composite Design*

Run rancangan percobaan dilakukan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 300 – 700 nm. Hasil percobaan berdasarkan rancangan desain disajikan pada tabel II.

Tabel II. Hasil *running* rancangan eksperimen

Std	Run	Faktor A waktu sintesis	Faktor B pH	Respon 1 λ maksimal	Respon 2 Abs.
3	1	15	10	339	1.3846
11	2	37.5	8	420	2.3116
5	3	5.68019	8	334	1.3771
8	4	37.5	10.8284	405	1.9796
7	5	37.5	5.17157	379	1.6091
10	6	37.5	8	404	2.3614
6	7	69.3198	8	415	2.6005
13	8	37.5	8	408	2.7201
1	9	15	6	337	1.3813
4	10	60	10	415	2.4452
2	11	60	6	406	1.6757
12	12	37.5	8	406	2.2559
9	13	37.5	8	404	2.2576

Uji kesesuaian model

Uji *fit* statistik didapati respon panjang gelombang maksimal dan absorbansi adalah model kuadratik. Hasil respon panjang gelombang maksimal SPR didapatkan nilai R^2 0,9560 > 0,07, perbedaan nilai *Adjusted R²* dan *predicted R²* yaitu 0,1565 < 0,2 dan nilai *adeq precision* sebesar 15,8857 lebih tinggi dari 4. Respon nilai absorbansi didapatkan nilai R^2 0,9560 > 0,7 yaitu, perbedaan *Adjusted R²* dan *predicted R²* yaitu 0,15 < 0,2 dan nilai *adeq precision* sebesar 9,5575 lebih besar dari 4. Berdasarkan evaluasi *fit statistic* semua respon memiliki pemodelan yang baik. Hasil pengujian kesesuaian model dapat dilihat pada tabel III di bawah ini.

Tabel III. Hasil uji kesesuaian model dengan analisis *fit statistic*

Respon	Model	R^2	<i>Adjusted R²</i>	<i>Predicted R²</i>	<i>Adeq precision</i>
Panjang gelombang	kuadratik	0,9560	0,9245	0,7680	15,8857
Abs.	kuadratik	0,9174	0,8584	0,7084	9,5575

Pengamatan Respon Panjang Gelombang Maksimal

Analisis hasil model berdasarkan *ANOVA* didapatkan hasil model uji yang signifikan yaitu terhadap faktor waktu pembuatan (A), pH (B), AB, A² dan B² kurang dari nilai probabilitas *p-value* 5% artinya ada pengaruh antara faktor terhadap nilai panjang gelombang maksimal SPR. Uji *lack of fit* didapatkan hasil yang tidak signifikan sebesar 18,19 %. Nilai *lack of fit* tidak signifikan menunjukkan bahwa adanya ketepatan nilai respon pengujian dengan nilai respon yang diprediksikan. Hasil analisis respon panjang gelombang dengan *ANOVA* dapat dilihat pada tabel IV.

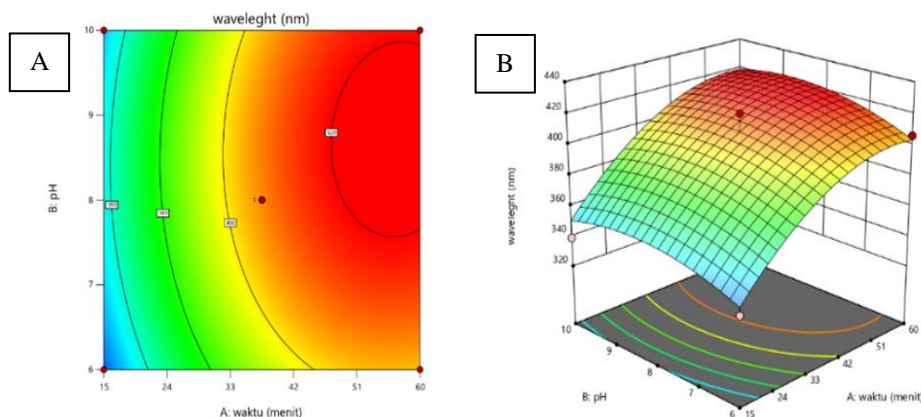
Tabel IV. Hasil analisis *ANOVA* respon panjang gelombang SPR

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	11729.59	5	2345.92	30.40	0.0001	<i>significant</i>
A-waktu	8420.86	1	8420.86	109.14	< 0.0001	
B-pH	285.24	1	285.24	3.70	0.0959	
AB	12.25	1	12.25	0.1588	0.7022	
A ²	2564.45	1	2564.45	33.24	0.0007	
B ²	759.67	1	759.67	9.85	0.0164	
Residual	540.10	7	77.16			
Lack of Fit	360.90	3	120.30	2.69	0.1819	<i>not significant</i>
Pure Error	179.20	4	44.80			
Cor Total	12269.69	12				

Hasil *codec equation* untuk optimasi waktu pembuatan dan pH terhadap respon digambarkan pada persamaan di bawah ini.

$$Y = +32,44 (A) + 5,97 (B) + 1,75 AB - 19,20 A^2 - 10,45 B^2$$

Berdasarkan respon di atas waktu sintesis (A), pH (B) serta interaksinya (AB) akan meningkatkan nilai SPR Panjang gelombang nanopartikel perak, selain itu waktu pembuatan memiliki kontribusi tertinggi dalam pembentukan nanopartikel perak yaitu sebesar 32,44% artinya semakin lama proses sintesis maka gugus hidroksi dalam ekstrak akan merubah Ag^+ menjadi Ag partikel nano. Pengaruh pH pembuatan memberikan peningkatan nilai panjang gelombang sebesar 5,97%. Interaksi antara waktu sintesis dan pH meningkatkan panjang gelombang sebesar 1,75 %.



Gambar 1. Hasil pengamatan respon panjang gelombang (A) Counter plot 2D (B) Counter plot 3D

Hasil pengamatan respon panjang gelombang *counter plot* pada gambar 1 menunjukkan waktu yang singkat dalam proses sintesis memiliki hasil dengan panjang gelombang di bawah 400 nm dapat dikatakan bahwa kurangnya interaksi pengadukan pada saat proses sintesis menyebabkan ion Ag belum tersintesis menjadi nanopartikel perak secara sempurna hal ini dikarenakan senyawa fenolik dan biomolekul yang mengandung gugus fungsi OH dalam tumbuhan belum dapat mendonorkan elektron ke ion Ag^+ untuk menghasilkan Ag partikel nano sehingga hasil respon pada analisis *Counter Plot* didapatkan waktu yang singkat dalam proses sintesis memiliki hasil panjang gelombang dibawah 400 nm. Al Azad *et al.* (2017) dalam penelitiannya melaporkan bahwa nilai panjang gelombang maksimal SPR di bawah 400 nm partikel yang terbentuk masih dalam bentuk ion (Ag^+).

Pengamatan Respon Absorbansi

Pengamatan nilai absorbansi digunakan untuk menggambarkan nanopartikel yang terbentuk. Analisis hasil respon absorbansi berdasarkan ANOVA didapatkan hasil model uji yang signifikan yaitu terhadap faktor waktu pembuatan (A), (B), AB, A^2 , B^2 artinya ada pengaruh antara lima faktor terhadap nilai panjang gelombang maksimal SPR. Uji *lack of fit* didapat hasil yang tidak signifikan sebesar 58,42 %. Hasil pengamatan respon absorbansi dapat dilihat pada tabel V.

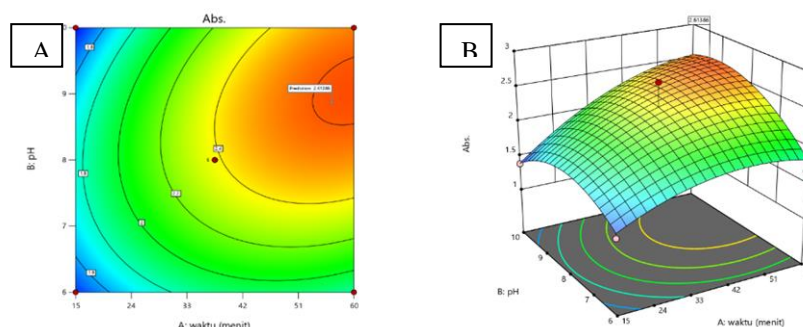
Tabel V. Hasil analisis ANOVA respon absorbansi

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	2.60	5	0.5201	15.55	0.0011	<i>significant</i>
A-waktu	1.19	1	1.19	35.57	0.0006	
B-pH	0.2102	1	0.2102	6.29	0.0406	
AB	0.1468	1	0.1468	4.39	0.0744	
A ²	0.3965	1	0.3965	11.85	0.0108	
B ²	0.7851	1	0.7851	23.48	0.0019	
Residual	0.2341	7	0.0334			
Lack of Fit	0.0830	3	0.0277	0.7330	0.5842	<i>not significant</i>
Pure Error	0.1511	4	0.0378			
Cor Total	2.83	12				

Hasil pengamatan *coded equation* terhadap respon absorbansi digambarkan dengan persamaan dibawah ini.

$$Y = +0,3856 (A) + 0,1621 (B) + 0,1916 (AB) - 0,2387 (A^2) - 0,3360 (B^2)$$

Hasil persamaan yang diperoleh di atas waktu sintesis memiliki kontribusi tertinggi dalam meningkatkan nilai absorbansi yaitu sebesar 38,52%. Persamaan data di atas juga menggambarkan pengaruh pH yang semakin tinggi dapat meningkatkan jumlah nanopartikel yang terbentuk sebesar 16,21%. Interaksi antara waktu sintesis dan pH meningkatkan absorbansi sebesar 19,16%. Pengamatan terhadap hasil *counter plot* dapat dilihat pada gambar 2 di bawah ini.



Gambar 2. Hasil pengamatan respon absorbansi (A) Counter plot 2D (B) Counter plot 3D

Hasil pengamatan *contour plot* respon absorbansi pada gambar 2 menggambarkan respon waktu pembuatan yang semakin lama akan meningkatkan jumlah nanopartikel yang terbentuk hal ini dikarenakan senyawa fenolik dan biomolekul yang mengandung gugus fungsi OH dalam tumbuhan akan mendonorkan elektron ke ion Ag^+ untuk menghasilkan Ag partikel nano sehingga hasil respon pada analisis *Counter Plot* didapatkan waktu yang lama dalam proses sintesis memiliki nilai absorbansi yang tinggi yang menandakan jumlah nanopartikel meningkat.

Hasil lain yang ditunjukkan pada gambar 2 adalah warna biru pada respon *counter plot* menggambarkan pembuatan menggunakan pH basa akan meningkatkan nilai absorbansi, ini menggambarkan pembentukan Ag^+ menjadi Ag^0 akan dipercepat pada suasana basa karena penambahan NaOH selain itu adanya molekul OH^- selanjutnya akan mengalami reaksi protonasi sehingga akan kehilangan proton, dimana hal ini akan mempermudah reduksi Ag^+ membentuk Ag^0 yang mengakibatkan peningkatan percepatan reaksi (*reduction rate*). Pernyataan ini sesuai dengan hasil penelitian Gontijo *et al.* (2020) yang menyatakan semakin tinggi nilai pH (basa) yang digunakan maka akan meningkatkan nilai absorbansi. Miranda *et al.* (2022) sintesis nanopartikel dengan pH 9 menghasilkan absorbansi yang lebih tinggi dibandingkan dengan pH 6.

Penentuan Proses Optimum Sintesis Nanopartikel Perak Daun Bayam Duri

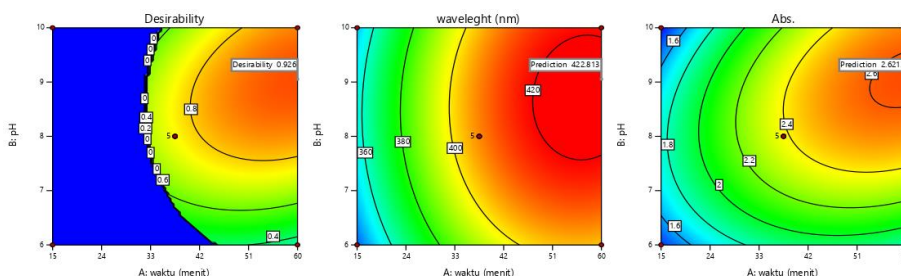
Penentuan respon dilakukan terhadap nilai panjang gelombang dan nilai absorbansi. Panjang gelombang maksimal SPR dengan *range* 400 – 450 nm merupakan serapan khas permukaan logam

perak. Derajat kepentingan untuk respon absorbansi menggambarkan jumlah nanopartikel yang terbentuk. Hasil solusi dapat dilihat pada tabel VI.

Tabel VI. Hasil *output* solusi sintesis nanopartikel dengan *design expert*

Number	waktu	pH	wavelength h	Abs.	Desirability
1	60.000	9.052	422.814	2.621	0.926 <i>Selected</i>

Hasil *output* pada penelitian ini serupa dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Nikaeen *et al.* (2020) komposisi biosintesis nanopartikel perak dengan konsentrasi AgNO_3 1 mM, waktu 60 menit, dan pH 9,9 dengan volume perbandingan AgNO_3 dan ekstrak 30 mL : 1,5 mL adalah prediksi komposisi proses optimal sintesis nanopartikel perak menggunakan *Central Composite Design*. Hasil pengamatan terhadap *contour plot output* nilai *desirability* yang terpilih dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Output numerical counter plot

Hasil uji konfirmasi ditentukan dengan melihat rentang batas atas dan batas bawah PI 95 % dan CI 95 %. Hasil uji konfirmasi dapat dilihat pada tabel VII.

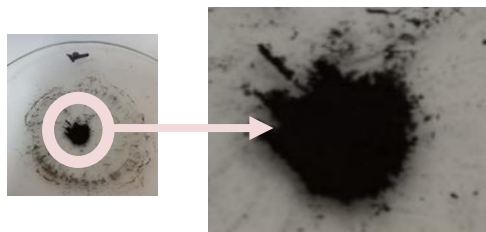
Tabel VII. Hasil uji konfirmasi

Respon	Prediksi	Observasi	95 CI %		95 PI %	
			Low	High	Low	High
Wavelength (nm)	422,81	415	410,725	434,9	398,656	446,807
Abs	2,613	2,8704	2,36964	2,87297	2,12096	3,12164

Hasil uji konfirmasi pada tabel VII respon nilai panjang gelombang maksimal pada hasil observasi sebesar 415 nm, nilai ini masuk kedalam rentang batas atas dan batas bawah PI 95 % dan CI 95 %. Hasil pengamatan pada nilai absorbansi yaitu 2,8704 juga terverifikasi masuk ke dalam *range* batas atas dan batas bawah PI 95 % dan CI 95 %.

Pengumpulan dan pemurnian nanopartikel perak hasil optimasi

Hasil sintesis nanopartikel perak daun bayam duri diperoleh serbuk berwarna hitam dengan kilau khas perak dengan berat serbuk sebesar 8,5 mg. Hasil pengumpulan dan pemurnian dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Hasil pengumpulan serbuk nanopartikel perak daun bayam duri

Karakterisasi Hasil Optimasi Sintesis Nanopartikel Perak Daun Bayam Duri

Karakterisasi terhadap ukuran partikel, indeks polidispersitas dan nilai *zeta* potensial dapat dilihat pada tabel VIII di bawah ini.

Tabel VIII. Hasil pengamatan ukuran partikel, indeks polydispersity, dan zeta potensial

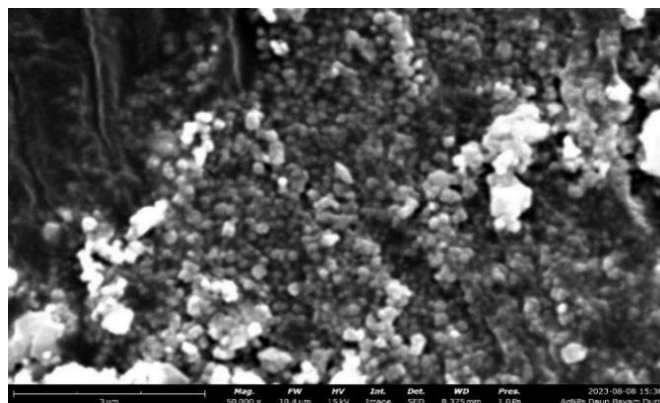
No.	Parameter	Hasil rata-rata
1	Ukuran partikel	$90,4 \pm 1,2$ nm
2	Indeks polydispersity (PDI)	$0,301 \pm 0,043688$
3	Zeta potensial	$-35,6 \pm 0,478$ mV

Rata-rata ukuran koloid nanopartikel perak pada tabel VIII yang dihasilkan adalah $90,04 \pm 1,2$ nm dengan nilai *indeks polidispersitas* sebesar 0,30. Hasil pengamatan koloid nanopartikel yang dihasilkan dari optimasi proses menggunakan *Central Composite Design* memiliki ukuran rata-rata dalam *range* nanopartikel yang baik (Joudeh and Linke, 2022). Hasil sintesis nanopartikel perak menggunakan bioreduktor tanaman ini serupa dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Rahim dkk. (2021) ukuran nanopartikel perak pada pH 9 sebesar 64,4 nm, Dwistika dan Suparno (2018) sebesar 97,1 nm, Rizkita dkk. (2023) sebesar 90 nm. Nilai PDI yang dihasilkan menunjukkan bahwa distribusi ukuran partikel yang dihasilkan dari optimasi proses menggunakan *Central Composite Design* bersifat *monodispers*, artinya distribusi ukuran partikel seragam, hal ini ditunjukkan dengan hasil nilai rata-rata IP sebesar 0,301.

Pengamatan nilai *zeta* potensial pada tabel VIII menghasilkan koloid dengan kestabilan yang baik dengan nilai rata-rata sebesar $35,633 \pm 1,478$ mV. Metabolit sekunder yang terdapat dalam daun bayam duri selain sebagai reduktor memiliki peran lain yaitu sebagai penstabil sekaligus *capping agent* karena adanya gugus fungsi hidroksil (-OH) yang dapat berinteraksi dengan partikel perak dengan membentuk lapisan *Electric Double Layer*. Lapisan *Electric Double Layer* hasil interaksi selanjutnya membentuk lapisan rangkap listrik pada permukaan partikel perak sehingga menyebabkan partikel yang satu dengan yang lain saling bertolakan, hal ini mencegah pembentukan agregat dan mempertahankan ukuran nanopartikel perak (Yokoyama *et al.*, 2018). Hasil sintesis nanopartikel dengan bioreduktor tanaman ini didukung oleh penelitian terdahulu Rajput *et al.* (2020) nilai *zeta* potensial sebesar $-33,5$ mV, Ahsan *et al.* (2020) sebesar -34 mV, Mohamed *et al.* (2022) sebesar $-29,3$ mV.

Pengamatan morfologi nanopartikel

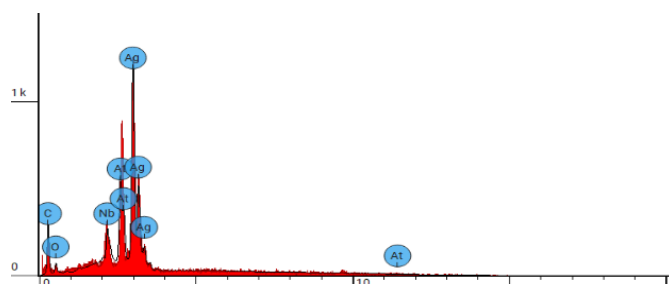
Hasil morfologi kristal partikel AgNPs yang dihasilkan mempunyai partikel bentuk tidak seragam, *spherical* (bulat), sebagian berbentuk kotak memanjang, cembung (*sferis*), dan cenderung bergerombol dimana hal ini dipengaruhi oleh bioreduktor yaitu ekstrak daun bayam duri yang masih dalam bentuk *crude* ekstrak. Bentuk morfologi nanopartikel bayam duri dalam penelitian ini serupa dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Dewi dkk. (2019) hasil sintesis nanopartikel daun sendok (*Plantago major* L.) memiliki bentuk sferis dan bergerombol. Hasil pengamatan morfologi nanopartikel perak daun bayam duri dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Morfologi permukaan nanopartikel perak daun bayam duri

Pengamatan sampel serbuk nanopartikel dengan *Energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS)*

Hasil pengamatan EDS menunjukkan ketajaman puncak yang tinggi di daerah penyerapan optik khas perak ditunjukkan pada 3 keV. Hasil ini di konfirmasi juga oleh penelitian Baran *et al.* (2023) dimana hasil penelitian tersebut senyawa perak (Ag) memberikan ketajaman puncak pada 3 keV. Hasil pengamatan komposisi kimia nanopartikel menggunakan EDS didapatkan puncak dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Hasil spektrum *Energy-dispersive X-ray spectroscopy* nanopartikel perak daun bayam duri

Hasil persentase komposisi dapat dilihat pada tabel IX. Hasil pengamatan konsentrasi perak mendominasi dengan konsentrasi berat 67,868 % dan 49,685 % konsentrasi atom dari total sampel. Konsentrasi lain yang terukur dalam sampel adalah C, O, At, dan Nb. Atom C dan O yang terdapat dalam sampel merupakan pengotor yang terdapat dalam ekstrak etanol daun bayam duri (Ke-Xin *et al.*, 2023).

Tabel IX. Hasil komposisi kimia nanopartikel daun bayam duri

Element number	Element symbol	Element name	Atomic Concentration (%)	Weight Concentration (%)
6	C	Carbon	27.647	4.204
8	O	Oxygen	9.882	2.002
41	Nb	Niobium	5.446	6.406
47	Ag	Silver	49.685	67.868
85	At	Astatine	7.341	19.520
Total			100	100

Uji aktivitas antibakteri nanopartikel daun bayam duri

Hasil pengujian aktivitas antibakteri bahwa nanopartikel daun bayam duri memiliki aktivitas antibakteri. Zona hambat AgNPs ekstrak daun bayam duri dalam penelitian didapati nilai sebesar 11

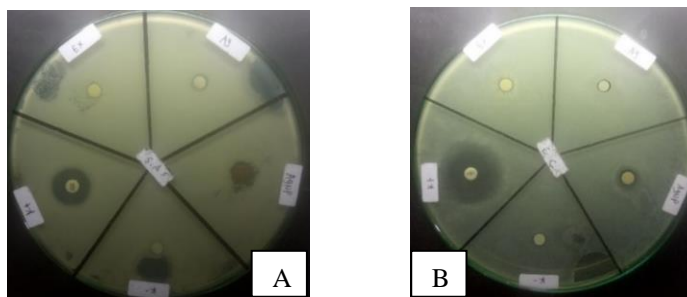
mm pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan 10,06 mm pada bakteri *Escherichia coli*. Diameter zona hambat pada penelitian ini termasuk kedalam kategori kuat (Davis and Stout, 1971). Hasil uji statistik pada kolom tabel *homogeneous subsets* serta *Independent-Kruskal Wallis Test pairwise* menunjukkan bahwa hasil uji antibakteri AgNPs nanopartikel perak daun bayam duri mendekati kontrol positif pada masing-masing bakteri yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dapat dilihat pada tabel X.

Tabel X. Hasil uji aktivitas antibakteri pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

No.	Sampel uji	Zona hambat			Rata-rata
		Replikasi			
		1	2	3	
<i>Staphylococcus aureus</i>					
1	AgNPs	11,8	10,5	11	11 ± 0,4
2	AgNO ₃ 1 mM	6,5	6,3	7	6,6 ± 0,29
3	Ekstrak	7	6	7	6,67 ± 0,577
4	Kontrol +	16,8	17,7	17	17,17 ± 0,38
5	Kontrol -	0	0	0	17,17 ± 0,38
<i>Escherichia coli</i>					
1	AgNPs	11	10,2	9	10,06 ± 0,8
2	AgNO ₃ 1 mM	7	7,5	7	7,17 ± 0,235
3	Ekstrak	6,5	6,3	6,7	6,5 ± 0,16
4	Kontrol +	26	25,5	27	26,17 ± 0,6
5	Kontrol -	0	0	0	0

Kemampuan logam perak dalam menghambat atau membunuh bakteri dikaitkan dengan adanya efek oligodinamik dan juga ukuran partikel (Lee and Jun, 2019). Partikel dengan ukuran kecil memiliki luas permukaan yang besar sehingga interaksi dengan membran bakteri dapat terjadi (Menichetti *et al.*, 2023). Ukuran nanopartikel yang kecil dapat melintasi penghalang membran sel, mendorong pembentukan radikal bebas, merusak permeabilitas membran sel, dan merusak fungsi pernapasan sel. Salleh *et al.* (2020) dalam penelitiannya mengungkapkan nanopartikel perak dapat berinteraksi dengan DNA, protein, enzim dan lipid yang ada pada bakteri. Morfologi kristal nanopartikel hasil sintesis dalam penelitian ini memiliki morfologi partikel yang tidak seragam dan cenderung memiliki luas permukaan lebar. Luas permukaan berkaitan dengan kemampuan partikel perak menempel pada dinding bakteri sehingga memungkinkan partikel dapat berinteraksi dengan dinding sel bakteri lebih kuat pada dinding sel bakteri Gram positif ataupun negatif (Halder *et al.*, 2015).

Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri didapatkan bahwa nanopartikel perak memiliki nilai zona hambat lebih besar pada bakteri *Staphylococcus aureus* dibanding dengan bakteri *Escherichia coli* hal ini dikarenakan perbedaan karakter fisiologis membran yang berbeda. Gambar 7 merupakan hasil pengamatan zona hambat menggunakan metode difusi dengan *paper disk*.



Gambar 7. Hasil pengamatan zona hambat (A) *Staphylococcus aureus* (B) *Escherichia coli*

Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki dinding sel dengan susunan yang tidak terlalu kompleks yaitu tersusun oleh asam teikoat dan lipoteikoat oleh karena itu nanopartikel perak daun bayam duri lebih mudah masuk dalam sel (Malanovic and Lohner, 2016). Penyusun bagian luar pada bakteri *Escherichia coli* tersusun oleh lipoprotein diikuti lipopolisakarida pada lapisan tengah dan peptidoglikan pada lapisan akhir sel bakteri, dimana lapisan ganda yang rapat pada susunannya menyebabkan bakteri *Escherichia coli* memiliki mekanisme pertahanan dalam melindungi dirinya dari senyawa nanopartikel perak lebih baik dari pada bakteri *Staphylococcus aureus* (Beveridge, 1999). Hal ini ditunjukkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* yang memiliki zona hambat lebih tinggi daripada bakteri *Escherichia coli*. Pernyataan ini sesuai dengan hasil penelitian Mouzaki *et al.*, (2022) zona hambat pada bakteri *Escherichia coli* sebesar 7 mm dan 12 mm pada bakteri *S. aureus*. Al-Abdullah (2023) zona hambat pada bakteri *Escherichia coli* sebesar $17 \pm 0,15$ mm dan $17 \pm 0,45$ mm pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun bayam duri dapat mereduksi AgNO_3 menjadi nanopartikel perak, dengan konsentrasi AgNO_3 1 mM, perbandingan volume ekstrak 3 mL dan volume AgNO_3 1 mL 30 mL, suhu 70°C , waktu pembuatan 60 menit, dan pH 9,05. Hasil optimasi proses sintesis nanopartikel daun bayam duri menggunakan *Central Composite Design* (CCD) memiliki ukuran 90,4 nm, nilai PDI 0,301, nilai zeta potensial $-35,6$ mV. Morfologi kristal partikel yang dihasilkan mempunyai bulat (sferis), sebagian bergerombol. Komposisi kimia sampel menunjukkan unsur perak (Ag) mendominasi pada sampel dengan puncak spektrum di 3 KeV. AgNPs daun bayam duri memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* dengan nilai zona hambat mendekati kontrol positif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Program Studi Magister S2 Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta serta semua pihak yang telah membantu dan memberi arahan dalam penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- A. Mamuru, S., Kaigamma, I. and E. Khan, M., (2019) Preliminary Phytochemical Screening and GC-MS Analysis of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Amaranthus spinosus* Leaves, *Journal of Natural Products and Resources*, 5(2), pp. 213–215. Available at: <https://doi.org/10.30799/jnpr.071.19050201>.
- Ahsan, A., Farooq, M.A., Bajwa, A.A., Parveen, A., (2020) Green synthesis of silver nanoparticles using parthenium hysterophorus: Optimization, characterization and in vitro therapeutic evaluation, *Molecules*, 25(15). Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules25153324>.
- Al-Abdullah, N., (2023) Efficacy of Silver Nanoparticle-Coated Crude Extract of *Aspergillus fumigatus* Against Bacterial Infections from Surgical Sites Wound, *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. C, Physiology and Molecular Biology*, 15(1), pp. 305–311. Available at: <https://doi.org/10.21608/eajbsc.2023.292071>.
- Alharbi, N.S., Alsubhi, N.S. and Felimban, A.I., (2022) Green synthesis of silver nanoparticles using medicinal plants: Characterization and application, *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 15(3), pp. 109–124. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2022.06.012>.
- Apriani, E.F., Mardiyanto, M. and Hendrawan, A., (2022) Optimization of Green Synthesis of Silver Nanoparticles From Areca Catechu L. Seed Extract With Variations of Silver Nitrate and Extract Concentrations Using Simplex Lattice Design Method, *Farmacia*, 70(5), pp. 917–924. Available at: <https://doi.org/10.31925/farmacia.2022.5.18>.
- Asnaashari Kahnouji, Y., Mosaddegh, E. and Bolorizadeh, M.A., (2019) Detailed analysis of size-separation of silver nanoparticles by density gradient centrifugation method, *Materials Science and Engineering C*, 103(May 2018), p. 109817. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109817>.

- Al Azad, S., Neaz Morshed, M., Deb, H., Alam, A.M., Hasan, K.M.F., Shen, X., (2017). Localized surface plasmon resonance property of Ag-nanoparticles and prospects as imminent multifunctional colorant, *American Journal of Nanoscience & Nanotechnology Research*, 5(1), pp. 21–40. Available at: <http://www.ivyunion.org>
- Bahrami-teimoori, B., Nikparast, Y., Hojatianfar, M., Ghorbani, R., Pourianfar, H.R., (2017) Characterisation and antifungal activity of silver nanoparticles biologically synthesised by *Amaranthus retroflexus* leaf extract, *Journal of Experimental Nanoscience*, 12(1), pp. 129–139. Available at: <https://doi.org/10.1080/17458080.2017.1279355>.
- Baran, M.F., Keskin, C., Baran, A., Hatipoğlu, A., Yildiztekin, M., Küçükaydin, S., Kurt, K., Hoşgören, H., Sarker, M.M.R., Sufianov, A., Beylerli, O., Khalilov, R., Eftekhari, A., (2023) Green Synthesis of Silver Nanoparticles from *Allium cepa* L. Peel Extract, Their Antioxidant, Antipathogenic, and Anticholinesterase Activity, *Molecules*, 28(5). Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules28052310>.
- Beveridge, T.J., (1999) Structures of gram-negative cell walls and their derived membrane vesicles, *Journal of Bacteriology*, 181(16), pp. 4725–4733. Available at: <https://doi.org/10.1128/jb.181.16.4725-4733.1999>.
- Davis, W.W. and Stout, T.R., (1971) Disc plate method of microbiological antibiotic assay. II. Novel procedure offering improved accuracy., *Applied microbiology*, 22(4), pp. 666–670. Available at: <https://doi.org/10.1128/aem.22.4.666-670.1971>.
- Dewi, K.T.A., Kartini, Sukweenadhi, J., Avanti, C., (2019) Karakter Fisik dan Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Perak Hasil Green Synthesis Menggunakan Ekstrak Air Daun Sendok (*Plantago major* L.), *Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(2), pp. 69–81. Available at: <https://doi.org/10.7454/psr.v6i2.4220>.
- Dwiastuti, R. and Dewi, N.K.D.P. (2022) Aplikasi Metode Optimasi Central Composite Design dalam Formulasi Sediaan Gel Nanopartikel Lipid dengan Bahan Aktif 4-N-Butilresorcinol, *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 8(1), pp. 71–81. Available at: <https://doi.org/10.51352/jim.v8i1.490>.
- Dwistika, R. and Suparno, S., (2018) Characteristics of Silver Nanoparticles From Electrolysis Techniques Based on Uv-Vis Spectrophotometer Amd Particle Size Analyzer (Psa) Test, *Jurnal UNY*, pp. 399–412.
- Elmayah, N.M., El-Fallal, A.A., Abou-Dobara, M.I., Khalifa, M.E. (2022) Response Surface Method for Optimizing the Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Talaromyces stipitatus* and Their Antimicrobial Activity, *Jordan Journal of Biological Sciences*, 15(3), pp. 511–522. Available at: <https://doi.org/10.54319/jjbs/150321>.
- Fabiani, V.A., Silvia, D., Liyana, D., Akbar, H., (2019) Sintesis Nanopartikel Perak Menggunakan Bioreduktor Ekstrak Daun Pucuk Idat (*Cratogeomys glaucum*) melalui Iradiasi Microwave serta Uji Aktivitasnya sebagai Antibakteri, 4(2), pp. 96–101.
- Gontijo, L.A.P., Raphael, E., Ferrari, D.P.S., Ferrari, J.L., Lyon, J.P., Schiavon, M.A., (2020) pH effect on the synthesis of different size silver nanoparticles evaluated by dls and their size-dependent antimicrobial activity, *Revista Materia*, 25(4), pp. 1–10. Available at: <https://doi.org/10.1590/S1517-707620200004.1145>.
- Gul, A., Shaheen, A., Ahmad, I., Khattak, B., Ahmad, M., Ullah, R., Bari, A., Ali, S.S., Alobaid, A., Asmari, M.M., Mahmood, H.M., (2021) Green Synthesis , Characterization , Enzyme Inhibition , Antimicrobial Potential , and Cytotoxic Activity of Plant Mediated Silver Nanoparticle Using *Ricinus communis* Leaf and Root Extracts.
- Halder, S., Yadav, K.K., Sarkar, R., Mukherjee, S., Saha, P., Halder, S., Karmakar, S., Sen, T., (2015) Alteration of Zeta potential and membrane permeability in bacteria: a study with cationic agents, *SpringerPlus*, 4(1), pp. 1–14. Available at: <https://doi.org/10.1186/s40064-015-1476-7>.
- Hidayat, I.R., Zuhrotun, A. and Sopyan, I., (2021) Design-expert Softwares, *Majalah Farmasetika*, 6(1), pp. 99–120.
- Jena, P., Bhattacharya, M., Bhattacharjee, G., Satpati, B., Mukherjee, P., Senapati, D., Srinivasan, R., (2020) Bimetallic gold-silver nanoparticles mediate bacterial killing by disrupting the

- actin cytoskeleton MreB, *Nanoscale*, 12(6), pp. 3731–3749. Available at: <https://doi.org/10.1039/c9nr10700b>.
- Joudeh, N. and Linke, D., (2022) Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists, *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1), pp. 1–29. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01477-8>.
- Ke-Xin, Y., Navaneetharajah, D., Amat, N., Zulkifli, N., Hui, N.C., Said, S.M., Tang, S.G.H. (2023) Physical Characterization of Green Synthesized Silver Nanoparticles Using Brown Seaweed *Sargassum Binderi*, *Malaysian Journal of Microscopy*, 19(1), pp. 259–270. Available at: <https://medium.com/@arifwicaksanaa/pengertian-use-case-a7e576e1b6bf>.
- Latif M.S, Abbas S., Kormin F., Mustafa MK. (2019) Green Synthesis of Plant-Mediated Metal Nanoparticles: the Role of Polyphenols, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 12(7), pp. 75–84. Available at: <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2019.v12i7.33211>.
- Lee, S.H. and Jun, B.H., (2019) Silver nanoparticles: Synthesis and application for nanomedicine, *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4). Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms20040865>.
- Maharani, D., Mahmudin, L. and Iqbal, I., (2019) Pengaruh Konsentrasi Zat Pereduksi Trinatrium Sitrata ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) Terhadap Sifat Optik Nanopartikel Perak, *Gravitasi*, 17(2). Available at: <https://doi.org/10.22487/gravitasi.v17i2.12421>.
- Malanovic, N. and Lohner, K., (2016) Gram-positive bacterial cell envelopes: The impact on the activity of antimicrobial peptides, *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1858(5), pp. 936–946. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbmem.2015.11.004>.
- Marslin, G., Siram, K., Maqbool, Q., Selvakesavan, R.K., Kruszka, D., Kachlicki, P., Franklin, G., (2018) Secondary metabolites in the green synthesis of metallic nanoparticles, *Materials*, 11(6), pp. 1–25. Available at: <https://doi.org/10.3390/ma11060940>.
- Menichetti, A., Mavridi-Printezi, A., Mordini, D., Montalti, M., (2023) Effect of Size, Shape and Surface Functionalization on the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles, *Journal of Functional Biomaterials*, 14(5). Available at: <https://doi.org/10.3390/jfb14050244>.
- Miranda, A., Akpobolokemi, T., Chung, E., Ren, G., Raimi-Abraham, B.T., (2022). pH Alteration in Plant-Mediated Green Synthesis and Its Resultant Impact on Antimicrobial Properties of Silver Nanoparticles (AgNPs), *Antibiotics*, 11(11). Available at: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111592>.
- Mohamed, R.M., Fawzy, E.M., Shehab, R.A., Abdel-Salam, M.O., Salah El Din, R.A., Abd El Fatah, H.M., (2022) Production, Characterization, and Cytotoxicity Effects of Silver Nanoparticles from Brown Alga (*Cystoseira myrica*), *Journal of Nanotechnology*, 2022. Available at: <https://doi.org/10.1155/2022/6469090>.
- Mouzaki, M., Maroui, I., Mir, Y., Lemkhente, Z., Attaoui, H., El Ouardy, K., Lboughmadi, R., Mouine, H., (2022) Green synthesis of silver nanoparticles and their antibacterial activities, *Green Processing and Synthesis*, 11(1), pp. 1136–1147. Available at: <https://doi.org/10.1515/gps-2022-0061>.
- Nikaeen, G., Yousefinejad, S., Rahmdel, S., Samari, F., Mahdavinia, S., (2020) Central Composite Design for Optimizing the Biosynthesis of Silver Nanoparticles using Plantago major Extract and Investigating Antibacterial, Antifungal and Antioxidant Activity, *Scientific Reports*, 10(1), pp. 1–16. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66357-3>.
- Rahim, D.M., Herawati, N. and Hasri, H., (2021) Sintesis Nanopartikel Perak Menggunakan Bioreduktor Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia Sinensis*) dengan Iradiasi Microwave., *Chemica: Jurnal Ilmiah Kimia dan Pendidikan Kimia*, 22(2), p. 45. Available at: <https://doi.org/10.35580/chemica.v22i2.26207>.
- Rajput, S., Kumar, D. and Agrawal, V., (2020) Green synthesis of silver nanoparticles using Indian Belladonna extract and their potential antioxidant, anti-inflammatory, anticancer and larvicidal activities, *Plant Cell Reports*, 39(7), pp. 921–939. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00299-020-02539-7>.
- Rizkita, A.D., Syarif, F.H., Almasum, N.R., (2023) Green Synthesis Reviews: Synthesis of Silver

- Nanoparticles from Galangal Rhizome Extract (*Alpina galanga*) and *Centella asiatica* Leaves as Bacterial Inhibitors, *on Religion, Science*, pp. 635–641. Available at: <http://sunankalijaga.org/prosiding/index.php/icrse/article/view/975%0Ahttps://sunankalijaga.org/prosiding/index.php/icrse/article/download/975/922>.
- Salleh, A., Naomi, R., Utami, N.D., Mohammad, A.W., Mahmoudi, E., Mustafa, N., Fauzi, M.B., (2020) The Potential of Silver Nanoparticles for Antiviral and Antibacterial Applications : A Mechanism of Action.
- Tailor, G., Yadav, B.L., Chaudhary, J., Joshi, M., Suvalka, C., (2020) Green synthesis of silver nanoparticles using *Ocimum canum* and their anti-bacterial activity, *Biochemistry and Biophysics Reports*, 24(September), p. 100848. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2020.100848>.
- Taran, M., Safaei, M., Karimi, N., Almasi, A., (2021) Benefits and application of nanotechnology in environmental science: an overview, *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(1), pp. 7860–7870. Available at: <https://doi.org/10.33263/BRIAC111.78607870>.
- Tuyen, P.N.K., Duong, N.T.T., Lien, D.T.M., (2019) Insights into chemical constituents of *Amaranthus spinosus* L. (Amaranthaceae) , *Vietnam Journal of Chemistry*, 57(2), pp. 245–249. Available at: <https://doi.org/10.1002/vjch.201900023>.
- Yin, I.X., Zhang, J., Zhao, I.S., Mei, M.L., Li, Q., Chu, C.H., (2020) The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry, *International Journal of Nanomedicine*, 15, pp. 2555–2562. Available at: <https://doi.org/10.2147/IJN.S246764>.
- Yokoyama, T., Masuda, H., Suzuki, M., Ehara, K., Nogi, K., Fuji, M., Fukui, T., Suzuki, H., Tatami, J., Hayashi, K., Toda, K., 2018 *Basic Properties and Measuring Methods of Nanoparticles, Nanoparticle Technology Handbook*. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64110-6.00001-9>.
- Zhang, E., Zhao, X., Hu, J., Wang, R., Fu, S., Qin, G., (2021) Antibacterial metals and alloys for potential biomedical implants, *Bioactive Materials*, 6(8), pp. 2569–2612. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.01.030>