UJI ANTIBAKTERI NANOPARTIKEL PERAK (AgNPs) EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa* SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh:
ROFI'ATUL ABADIA
NIM. 210602110113

PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2025

UJI ANTIBAKTERI NANOPARTIKEL PERAK (AgNPs) EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa* SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh:
ROFI'ATUL ABADIA
NIM. 210602110113

diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2025

UJI ANTIBAKTERI NANOPARTIKEL PERAK (AgNPs) EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa* SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh:
ROFI'ATUL ABADIA
NIM. 210602110113

telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
tanggal: 16 Juni 2025

Pembimbing I	Pembimbing II
Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si	**Prof. Dr. Munirul Abidin, M.Ag**
NIP. 197109192000032001	**NIP. 197204202002121003**

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi

Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 197410182003122002

Dipindai dengan CamScanner

UJI ANTIBAKTERI NANOPARTIKEL PERAK (AgNPs) EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa* SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh:
ROFI'ATUL ABADIA
NIM. 210602110113

telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.)
Tanggal: ...6 Juni 2025.....2025

Ketua Penguji	**: Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si** **NIP. 19671113 199402 2 001**	(.....)
Anggota Penguji 1	**: Fitriyah, M.Si** **NIP. 19860725 201903 2 013**	(.....)
Anggota Penguji 2	**: Prof. Dr. drh.Bayyinatul Muchtaromah, M.Si** **NIP. 19710919 200003 2 001**	(.....)
Anggota Penguji 3	**: Prof. Dr. Munirul Abidin, M.Ag** **NIP. 19720420 200212 1 003**	(.....)

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Biologi

Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

Dipindai dengan CamScanner

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil‘alamin, segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas limpahan rahmat dan nikmat yang telah mengiringi setiap langkah dalam menyelesaikan skripsi ini. Shalawat dan salam tercurah kepada Rasulullah SAW, pemimpin umat yang senantiasa menunjukkan jalan menuju kebaikan. Sebagai bentuk penghormatan dan ungkapan terima kasih, skripsi ini penulis persembahkan kepada:

1. Orang tua tercinta, yang senantiasa memberikan kasih sayang, do’a, dan dukungan yang tak terhingga. Keberhasilan penulis dalam menyelesaikan perjalanan akademik ini tidak terlepas dari kontribusi yang mereka berikan sebagai donatur utama dalam kehidupan penulis.
2. Kakak tercinta, yang selalu memberikan arahan dan nasihat yang mendalam dalam setiap langkah penulis.
3. Rekan- rekan penelitian di bidang Mikrobiologi, yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terima kasih atas semangat, kerja sama, dan canda tawa yang mengisi hari-hari panjang di laboratorium.
4. Teman-teman Biologi D (Deimos Galaxias), yang yang telah menjadi bagian tak terpisahkan dalam perjalanan akademik selama 8 semester. Dukungan dan kebersamaan menjadi dukungan bagi penulis.
5. Anggota grup kos sekar melati, Tasya, Rani, Vanes, Shafiya dan dewi, yang senantiasa mendampingi penulis dengan dukungan dan semangat yang tak ternilai. Kehadiran mereka di samping penulis, baik dalam suka maupun duka, serta berbagi cerita dan tawa di tengah tantangan penulisan skripsi ini, telah memberikan energi positif dan kebahagiaan yang sangat berarti.

Malang, 27 April 2025

Rofi’atul Abadia

MOTTO

“A goal without a plan is just a wish”

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama	: Rofi'atul Abadia
NIM	: 210602110113
Program Studi	: Biologi
Fakultas	: Sains dan Teknologi
Judul Penelitian	: Uji Antibakteri Nanopartikel Perak (AgNPs) Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* Secara *In Vitro*

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-banar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 27 April 2025
Yang membuat pernyataan

Rofi'atul Abadia
NIM. 210602110113

Dipindai dengan CamScanner

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

Uji Antibakteri Nanopartikel Perak (AgNPs) Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* Secara *In Vitro*

Rofi'atul Abadia, Bayyinatul Muchtaromah, Munirul Abidin

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Infeksi kulit akibat bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* sering dikaitkan dengan infeksi piogenik yang sulit diobati akibat meningkatnya resistensi terhadap antibiotik konvensional. Nanopartikel perak (AgNPs) berbasis ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) diketahui memiliki aktivitas antibakteri yang kuat dan berpotensi sebagai alternatif terapi. Senyawa fenolik dalam ekstrak daun sirih berperan dalam mereduksi ion. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi AgNPs dan mengevaluasi aktivitas antibakterinya terhadap *S. aureus* dan *P. aeruginosa*. Karakterisasi nanopartikel dilakukan dengan Spektrofotometer UV-vis. Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode difusi cakram dengan 7 perlakuan, yaitu 25, 50, 75, 100, 125 µg/mL dan kontrol positif (levofloxacin 1%) serta kontrol negatif (DMSO 5%). Perlakuan uji KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum), yaitu 25; 12,5 ; 6,25; 3,125; 1,5625; 0,7812 µg/mL. Data dianalisis menggunakan One-Way ANOVA, dilanjutkan dengan uji DMRT untuk mengidentifikasi perbedaan antar kelompok. Hasil antibakteri menghasilkan zona hambat terhadap *S. aureus* sebesar 9,4–12,6 mm (kategori sedang hingga kuat) dan terhadap *P. aeruginosa* sebesar 11,17–14,20 mm (kategori kuat). Nilai KHM terhadap *S. aureus* sebesar 6,25 µg/mL, sedangkan terhadap *P. aeruginosa* sebesar 1,562 µg/mL. Nilai KBM terhadap *S. aureus* sebesar 12,5 µg/mL dan *P. aeruginosa* sebesar 6,25 µg/mL. Hasil analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar konsentrasi, meskipun tidak semua konsentrasi menunjukkan perbedaan yang signifikan satu sama lain. Konsentrasi 125 µg/mL berbeda signifikan dengan 25 dan 50 µg/mL, namun tidak dengan 75 dan 100 µg/mL.

Kata kunci: antibakteri, *Piper betle* L., infeksi kulit, nanopartikel perak, *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus*

Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles (AgNPs) from Green Betel Leaf Extract (*Piper betle* L.) Against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* Bacteria through In Vitro

Rofi'atul Abadia, Bayyinatul Muchtaromah, Munirul Abidin

Biology Program Study, Faculty of Science and Technology, The State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

Skin infections caused by pathogenic bacteria such as *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* are often associated with pyogenic infections, which are difficult to treat due to the increasing resistance to conventional antibiotics. Silver nanoparticles (AgNPs) based on green betel leaf extract (*Piper betle* L.) are known to exhibit strong antibacterial activity and have the potential as an alternative therapy. The phenolic compounds in the leaf extract play a role in reducing ions. This study aims to characterize AgNPs and evaluate their antibacterial activity against *S. aureus* and *P. aeruginosa*. Characterization of the nanoparticles was performed using a UV-Vis spectrophotometer. The antibacterial activity was tested using the disk diffusion method with 7 treatments: 25, 50, 75, 100, 125 µg/mL, and positive control (levofloxacin 1%) and negative control (5% DMSO). The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) tests were performed with concentrations of 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,5625; 0,7812 µg/mL. Data were analyzed using One-Way ANOVA, followed by DMRT test to identify differences between groups. The antibacterial results showed inhibition zones against *S. aureus* ranging from 9,4–12,6 mm (medium to strong category) and against *P. aeruginosa* ranging from 11,17–14,20 mm (strong category). The MIC for *S. aureus* was 6,25 µg/mL, while for *P. aeruginosa* it was 1,562 µg/mL. The MBC for *S. aureus* was 12,5 µg/mL, and for *P. aeruginosa* it was 6,25 µg/mL. Statistical analysis revealed significant differences between concentrations, although not all concentrations showed significant differences from one another. The concentration of 125 µg/mL was significantly different from 25 and 50 µg/mL, but not from 75 and 100 µg/mL.

Keywords: *antibacterial*, *Piper betle* L., *silver nanoparticles*, *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus*

المستخلصة من أوراق نبات الفلفل الأخضر (AgNPs) النشاط المضاد للبكتيريا لجسيمات الفضة النانوية *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* ضد بكتيريا (*Piper betle* L.) في المختبر (*In Vitro*)

رفيعة العبادية، بينات المخترمة، منير العابدين

قسم علم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

مستخلص البحث

غالبًا ما ترتبط الالتهابات الجلدية التي تسببها البكتيريا الممرضة مثل المكورات العنقودية الذهبية والزائفة الزنجارية بالعدوى القيحية التي المعتمدة (AgNPs) يصعب علاجها بسبب زيادة مقاومتها للمضادات الحيوية التقليدية. ومن المعروف أن الجسيمات النانوية الفضية تمتلك نشاطًا مضادًا للبكتيريا قويًا، ولها القدرة على العمل كعلاج (*Piper betle* L.) على مستخلص أوراق التنبول الخضراء بديل. تلعب المركبات الفينولية الموجودة في مستخلص أوراق التنبول دورًا في تقليل الأيونات.تهدف هذه الدراسة إلى تحديد خصائص الجسيمات النانوية الفضية وتقييم نشاطها المضاد للبكتيريا ضد المكورات العنقودية الذهبية والزائفة الزنجارية. تم إجراء توصيف الجسيمات النانوية باستخدام مطياف الأشعة فوق البنفسجية–المرئية. كما تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا باستخدام طريقة انتشار القرص مع معالجات، وهي: 25، 50، 75، 100، 125 ميكروغرام/مل، والتحكم الإيجابي (ليفوفلوكساسين 1%)، والتحكم السلبي 7 ،فشمل التركيزات: 25 (MBC) والتركيز المبيد للبكتيريا الأدنى (MIC) أما اختبار التركيز المثبط الأدنى.(DMSO 5%) ،ميكروغرام/مل. وتم تحليل البيانات باستخدام تحليل التباين أحادي الاتجاه 0.7812 ،1.5625 ،3.125 ،6.25 ،12.5 .S لتحديد الاختلافات بين المجموعات.أظهرت النتائج المضادة للبكتيريا وجود منطقة تثبيط ضد DMRT متبوعًا باختبار .بين 11.17–14.20 ملم (فئة قوية) *P. aeruginosa* تتراوح بين 9.4–12.6 ملم (فئة متوسطة إلى قوية)، وضد aureus .ميكروغرام/مل 1.562 *P. aeruginosa* ميكروغرام/مل، بينما كانت ضد 6.25 *S. aureus* ضد MIC بلغت قيمة ميكروغرام/مل.وأظهرت نتائج التحليل 6.25 *P. aeruginosa* ميكروغرام/مل، و 12.5 *S. aureus* لـ MBC وبلغت قيمة الإحصائي فروقًا معنوية بين التركيزات، على الرغم من أن ليس كل التركيزات أظهرت فروقًا معنوية فيما بينها. كان تركيز 125 .ميكروغرام/مل مختلفًا بشكل كبير عن تركيزي 25 و50 ميكروغرام/مل، ولكنه لم يكن مختلفًا عن تركيزي 75 و100 ميكروغرام/مل

الكلمات المفتاحية: الكلمات المفتاحية: مضاد للبكتيريا، بايبر بيتل إل، جسيمات نانوية فضية، الزائفة الزنجارية، المكورات العنقودية الذهبية

KATA PENGANTAR

Syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala nikmat dan karunia-Nya, sehingga penulisan skripsi yang berjudul "Uji Antibakteri Nanopartikel Perak (AgNPs) Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* Secara *In Vitro*". Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW sebagai pembawa risalah yang kekal hingga akhir zaman. Penulis dengan hormat menyampaikan ucapan terima kasih kepada seluruh pihak yang memberikan kontribusi dalam penyusunan skripsi. Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. H. M. Zainuddin, M.A., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. Sri Harini, M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P., selaku Ketua Program Studi Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si., selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan masukan dalam penysunan skripsi.
5. Prof. Dr. H. Munirul Abidin M.Ag., selaku dosen pembimbing agama yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan masukan terkait integrasi Sains dan Islam dalam kepenulisan skripsi.
6. Muhammad Asmuni Hasyim, M. Si., selaku dosen wali yang telah membimbing dan memberikan motivasi sehingga penulis dapat menyusun skripsi dengan baik.
7. Seluruh bapak/ibu dosen dan tenaga laboratorium di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu pengetahuan yang bermanfaat.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini belum mencapai kesempurnaan yang diharapkan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan untuk perbaikan dalam penyusunan penelitian ini. Semoga laporan ini dapat memberikan manfaat baik bagi penulis maupun para pembaca.

Malang, 17 September 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL……...ii
HALAMAN PERSETUJUAN……....iii
HALAMAN PENGESAHAN……...……..iv
HALAMAN PERSEMBAHAN……...v
MOTTO...……....vi
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN……..……vii
HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI…….viii
ABSTRAK……..……ix
ABSTRACT……...……..x
مستخلص البحث……xi
KATA PENGANTAR…….xii
DAFTAR ISI…….xiii
DAFTAR TABEL……..xvi
DAFTAR GAMBAR……xvii
DAFTAR LAMPIRAN……...xviii

BAB I.PENDAHULUAN
1.1 Latar Belakang……1
1.2 Rumusan Masalah ……. 7
1.3 Tujuan Penelitian……8
1.4 Manfaat Penelitian……..8
1.5 Batasan Masalah……9

BAB II TINJAUAN PUSTAKA
2.1 Pemanfaatan Tumbuhan Obat dalam Perspektif Al-Qur'an…….....10
2.2 Sirih Hijau (*Piper betle* L.)……13
2.2.1 Morfologi……13
2.2.2 Taksonomi …….…….15
2.2.3 Kandungan dan Manfaat…….15
2.3 Ekstraksi……...16
2.4 Infeksi Piogenik Kulit……...17
2.5 Bakteri Piogenik……...18
2.5.1 *Staphylococcus aureus*……18
2.5.1.1 Klasifikasi……..……18
2.5.1.2 Karakteristik……...……18
2.5.1.3 Patogenitas……..…….……..19
2.5.2 *Pseudomonas aeruginosa* ……..20
2.5.2.1 Klasifikasi……..……20
2.5.2.2 Karakteristik……...……21
2.5.2.3 Patogenitas ….……..…….22
2.6 Nanopartikel…….22
2.6.1 Nanopartikel Perak (AgNPs)……..24
2.6.2 Pembuatan Nanopartikel…….26
2.6.3 Potensi Nanopartikel Perak sebagai Antibakteri……...…..29

2.7 Uji Antibakteri……..31
2.7.1 Karakterisasi Spektrofotometer UV-Visible..…..……..31
2.7.2 Metode Difusi Cakram ……..….31
2.7.3 Metode Dilusi……...……..33
2.8 Levofloxacin……..……...34
2.9 DMSO……...……35

BAB III. METODE PENELITIAN
3.1 Rancangan Penelitian ……..36
3.2 Waktu dan Tempat……36
3.3 Variabel Penelitian…….. 37
3.3.1 Variabel Bebas……37
3.3.2 Variabel Terikat…...……...37
3.3.3 Variabel Kontrol……...……..37
3.4 Alat dan Bahan…….37
3.4.1 Alat…….37
3.4.2 Bahan…….38
3.5 Prosedur Penelitian…….…..38
3.5.1 Ekstraksi…….…38
3.5.2 Sintesis Nanopartikel Perak……..…….39
3.5.3 Karakterisasi Nanopartikel Perak……...39
3.5.3.1 Karakterisasi dengan Spektrofotometer UV-Vis…....39
3.5.4 Uji Aktivitas Antibakteri……40
3.5.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan……..……39
3.5.4.2 Pembuatan Media……..……40
3.5.4.2.1 Media Mueller Hinton Agar (MHA)…..….40
3.5.4.2.2 Media Mueller Hinton Broth (MHB)…...…40
3.5.4.3 Pengambilan Sampel Bakteri…….41
3.5.4.4 Peremajaan Bakteri Uji……...…...41
3.5.4.5 Pembuatan Larutan Standart……...…...42
3.5.4.6 Pembuatan Larutan Kontrol……..……..…41
3.5.4.7 Pembuatan Suspsensi Bakteri……..……..….42
3.5.4.8 Pembuatan Larutan Uji…….……..…43
3.5.4.9 Uji Diameter Zona Hambat…….……..…..43
3.5.4.10 Uji KHM dan KBM…….…..……..…..44
3.6 Perhitungan Koloni Bakteri……..46
3.7 Analisis Data……46

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN
4.1 Karakterisasi Nanopartikel Perak Ekstrak Daun Sirih Hijau…….. 48
4.1.1 Karakterisasi Warna……..……48
4.1.2 Analisis Spektrofotometer Uv-Vis……..……..50
4.2 Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Perak Ekstrak Daun Sirih Hijau (*P. betle*)...……..……..……..…….53
4.3 Aktivitas Hambat dan Bunuh Minimum Nanopartikel Perak Ekstrak Daun Sirih Hijau (*P. betle*)……..……..…….61
4.4 Relevansi Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam…….……67

BAB V KESIMPULAN SARAN
5.1 Kesimpulan……..72
5.2 Saran……72

DAFTAR PUSTAKA…….……...74

LAMPIRAN…….86

DAFTAR TABEL

Tabel Halaman

2.1. Klasifikasi zona hambat……..…….32
4.1. Hasil diameter zona hambat AgNPs ekstrak daun sirih hijau (*P. betle*) terhadap bakteri uji……54
4.2. Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)……61
4.3. Hasil Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)……..64

DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman

2.1. Bagian tumbuhan sirih hijau (*Piper betle* L.)……...…14
2.2. Bakteri *S.aureus*……..19
2.3. Bakteri *P.aeruginosa* ……...21
2.4. Metode sinteis nanopartikel perak……...27
2.5. Mekanisme sintesis hijau nanopartikel perak…….....28
2.6. Mekanisme antibakteri menggunakan nanopartikel perak…….…..……..29
3.1. Pengukuran diameter zona hambat……..……....44
3.2. Teknik mikrodilusi antibakteri menggunakan prinsip CLSI (*Clinical & Laboratory Standards Institute*)……..……....45
4.1. Perubahan warna larutan selama proses sintesis nanopartikel perak (AgNPs)……...48
4.2. Spektrum UV-Vis AgNPs……...…….51
4.3. Diameter zona hambat……..……...57
4.4. Perbandingan efektifvitas antibakteri AgNPs terhadap bakteri uji berdasarkan diameter zona hambat……..59
4.5. Nilai ditunjukkan oleh lingkaran merah pada *microplate* 96 *well*.....63

DAFTAR LAMPIRAN

1. Alur Penelitian……86
2. Nilai Panjang Gelombang dan Absorbansi Nanopartikel Perak (AgNPs), Larutan Perak Nitrat ($AgNO_3$), dan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*P. betle*) dengan Spektrofotometer Uv-vis……87
3. Diameter Zona Hambat……...88
4. Analisis Statistika Diameter Zona Hambat menggunakan SPSS…..……..89
5. Hasil Uji KHM (Konsentrasi Hambat Minimum)……..……92
6. Hasil Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)…….93
7. Dokumentasi Penelitian……..97

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi tergolong sebagai salah satu permasalahan yang krusial di negara berkembang, termasuk Indonesia, karena menjadi salah satu pemicu utama tingginya angka kematian. Infeksi kulit merupakan isu kesehatan global yang memilki dampak signifikan. Menurut data yang diterbitkan oleh *World Health Organization* (WHO), menyebutkan bahwa prevalensi infeksi kulit di seluruh dunia tercatat sekitar 300 juta setiap tahun. Prevalensi infeksi kulit di Indonesia berada pada rentang 4,60% hingga 12,95%, menjadikannya sebagai salah satu dari sepuluh penyakit yang paling umum diderita oleh masyarakat. Merujuk pada data *Global Burden of Disease* (GBD) tahun 2019, menunjukkan bahwa sekitar 23% dari kasus infeksi kulit disebabkan oleh bakteri dan menyumbang proporsi besar dari kasus ini.

Sebagian besar bakteri di kulit bersifat non-patogen dan berfungsi sebagai komensal, namun beberapa di antaranya, seperti *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, berpotensi menimbulkan infeksi kulit yang bergejala (Fasha & Yapa, 2023). Infeksi yang disebabkan oleh dua bakteri tersebut sering kali kali bersifat piogenik, yaitu menghasilkan nanah (*pus*) sebagai respon dari peradangan akut (Singh *et al*., 2013). Menurut Ekawati dkk (2018) *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* menunjukkan kemiripan yang tinggi sebagai penyebab infeksi piogenik, dengan persentase kemiripan masing-masing 90,7% dan 91,5%.

Staphylococcus aureus diklasifikasikan sebagai bakteri Gram-positif dan umumnya ditemukan pada kulit manusia serta selaput lendir, dengan manusia

sebagai *reservoir* utama (Taylor & Unakal, 2023). Penyakit infeksi kulit akibat *Staphylococcus aureus* umumnya ditandai dengan peradangan, kerusakan jaringan, dan munculnya abses. Infeksi ini bisa menyebabkan berbagai kondisi seperti jerawat, bisul, atau luka terbuka (Tuntun, 2016).

Pseudomonas aeruginosa merupakan jenis bakteri Gram-negatif yang sering menjadi penyebab infeksi oportunistik (Wu *et al.,*2011). Infeksi ini sering kali dikaitkan dengan infeksi luka bakar, luka terbuka dan abses. Kondisi tersebut dapat menghambat proses penyembuhan cedera kulit dan berpotensi menyebabkan luka menjadi kronis (Nagoba *et al*., 2017).

Infeksi kulit biasanya diobati dengan antibiotik. Akan tetapi, penggunaan antibiotik secara tidak rasional telah memicu munculnya resistensi bakteri sehingga dapat menyebabkan ancaman besar bagi kesehatan global (Lim *et al.,* 2018). Penyakit infeksi kulit yang bersifat piogenik dapat disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* resisten terhadap golongan antibiotik seperti *Cefixime, Imipenen, Ofloxacin, Norfloxacin, Clindamisin, Cephazon,* dan *Amyclin* (Ramadhani dkk., 2021).

Penggunaan antibiotik yang berlebihan menyebabkan bakteri menjadi kebal terhadap berbagai jenis antibiotik yang biasa digunakan untuk melawan infeksi. Kondisi ini berdampak pada penurunan efektivitas pengobatan dan memperpanjang durasi penyakit. Selain itu, resistensi antibiotik juga dapat meningkatkan biaya perawatan hingga risiko kematian (Oktianti & Hati, 2023;Taixeira *et al*., 2018).

Salah satu alternatif pendekatan yang relevan dalam mengatasi resistensi bakteri adalah dengan penggunaan nanopartikel. Ukuran nanopartikel berkisar 1-100 nm dan memilki rasio luas permukaaan terhadap volume yang besar sehingga

berpotensi sebagai agen pengobatan dalam menangani infeksi mikroba (Hajipour *et al*., 2012). Selain itu, nanopartikel juga dipengaruhi oleh morfologi, ukuran, dan karakteristik partikelnya (Khan *et al.*, 2019).

Nanopartikel perak (AgNPs) banyak diaplikasikan sebagai agen antimikroba karena efektivitasnya dalam menghambat pertumbuhan mikroba (Moon *et al.*, 2019). Menurut Ariyanta (2016) perak telah lama diakui sebagai senyawa dengan kemampuan antimikroba yang efektif untuk membasmi berbagai jenis mikroorganisme. Selain itu, hingga kini belum ditemukan adanya bukti adanya mikroorganisme yang mampu membangun resistensi terhadap sifat antimikroba perak.

Dalam bidang dermatologi, penggunaan nanopartikel perak semakin berkembang untuk mempercepat proses penyembuhan luka serta untuk pengobatan dan pencegahan infeksi bakteri (Rosli *et al.*, 2021). Menurut Ezhilarasu *et al* (2020) penggunaan nanopartikel perak dalam terapi luka terbukti efektif karena mampu meningkatkan pengendapan kolagen secara signifikan, mempercepat proses penyembuhan luka, dan menunjukkan efek anti-inflamasi. Selain itu, toksisitas yang rendah dan proses sintesis yang lebih sederhana sehingga membuat nanopartikel perak aman digunakan dan banyak dimanfaatkan dalam berbagai keperluan medis (Buzea *et al.*, 2007).

Berbagai metode seperti fisika, kimia, dan biologi dapat digunakan dalam proses sintesis nanopartikel perak. Metode sintesis biologi, menggunakan ekstrak tumbuhan dikenal sebagai sintesis hijau dan telah menjadi perhatian utama dalam penelitian beberapa tahun terakhir. Sintesis hijau memanfaatkan senyawa bioaktif dari tumbuhan sebagai agen pereduksi (Rajalakhsmi *et al.,* 2024). Keunggulan

sinetsis tersebut yaitu ekonomis dan mengurangi penggunaan bahan kimia berbahaya sehingga ramah lingkungan (Taba dkk., 2019; Syaiama *et al*., 2023).

Al-Qur'an secara tersirat memerintahkan umat manusia untuk mempelajari dan memahami ayat-ayat yang menjelaskan tentang alam, termasuk tumbuhan. Keberadaan tumbuhan tidak hanya berperan dalam menjaga keseimbangan ekosistem, tetapi juga memberikan manfaat besar bagi kehidupan. Sebagaimana tercantum dalam Al-Qur'an Surah Luqman ayat 10, sebagai berikut:

خَلَقَ السَّمٰوٰتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَاَلْقٰى فِى الْاَرْضِ رَوَاسِيَ اَنْ تَمِيْدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيْهَا مِنْ كُلِّ دَاۤبَّةٍۗ وَاَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاۤءِ مَاۤءً فَاَنْۢبَتْنَا فِيْهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيْمٍ ۝١٠

Artinya: "*Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik"*

Ayat di atas mengungkapkan kebesaran Allah SWT yang menciptakan aneka ragam tumbuhan yang baik sebagai anugerah dan rahmat bagi kehidupan makhluk di bumi. Menurut *Tafsir Al-Misbah* oleh Shihab (2002), kata "كَرِيمٍ" menggambarkan segala sesuatu yang memiliki mutu baik dan sesuai dengan objeknya. *Rizq* yang karim adalah yang melimpah, halal, dan memilki nilai guna. Begitu pula, tumbuhan yang "*karim*" mengacu pada tumbuhan subur yang memberikan manfaat berkualitas tinggi. Tafsir Ibnu Katsir menjelaskan bahwa frasa " زَوْجٍ كَرِيمٍ " merujuk pada berbagai jenis tumbuh-tumbuhan yang baik dan indah dipandang. Tumbuhan tidak hanya memukau dengan keindahannya, tetapi juga kaya akan khasiat, khususnya sebagai bahan obat yang bermanfaat bagi kesehatan manusia. Ayat tersebut menunjukkan kekuasaan Allah dalam menciptakan tumbuhan yang tidak hanya memperindah alam, tetapi juga memberikan manfaat luas bagi kehidupan.

Salah satu tumbuhan yang digunakan dalam sintesis nanopartikel perak adalah sirih hijau (*Piper betle L.*). Tumbuhan sirih hijau mudah ditemukan di lingkungan sekitar dan dikenal luas dalam pengobatan tradisional (Rai *et al*., 2011). Daun sirih hijau memilki senyawa aktif, seperti 4-alifenil asetat, eugenol, eugenil asetat, kavikol, dan alipirokatekol diasetat berperan dalam mereduksi Ag^{+} menjadi Ag^{0} (Hasanah & Roto, 2013).

Daun sirih hijau berperan sebagai bioreduktor dalam sintesis nanopartikel perak, menghasilkan nanopartikel yang lebih stabil dan aktivitas antibakteri yang kuat (Indriani dkk., 2022). Menurut peneletian oleh Praba *et al* (2014) mengkaji bahwa AgNPs ekstrak daun sirih hijau yang dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis, mengindikasikan puncak penyerapan pada panjang gelombang sekitar 444 nm. Puncak ini mengindikasikan terbentuknya nanopartikel perak dan terdapat adanya fenomena *Surface Plasmon Resonance* (SPR), yaitu interaksi antara nanopartikel perak dengan cahaya pada panjang gelombang tertentu. Menurut Mallikarjuna & Varma (2007), AgNPs yang disintesis dari tumbuhan umumnya memiliki puncak penyerapan dalam rentang 400–500 nm.

Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa sintesis nanopartikel perak dengan reduktor berupa rebusan ekstrak daun sirih hijau menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih unggul dibandingkan dengan ekstrak daun sirih hijau tanpa disalut dengan nanopartikel perak dan larutan perak nitrat murni (Rashida *et al.,* 2016). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Marfu'ah *et al* (2021) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun sirih pada konsentrasi 10-40% menghasilkan diameter zona hambat berkisar antara 1,81 – 3,01 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Sementara itu, Mejos *et al* (2023) melaporkan bahwa ekstrak berair daun sirih hijau

memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dengan zona hambat sebesar 7,66 ± 0,6 mm, dan terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 8,83 ± 0,2 mm.

Penelitian oleh Anjum & Abassi (2016) bahwa uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan larutan perak nitrat (AgNO3) murni dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* sebesar 4,1 ± 0,08 dan *E.coli* sebesar 2,1 ± 0,03. Kedua uji tersebut masih tergolong dalam kategori lemah. Sementara itu, penelitian oleh Jacob (2016) melaporkan bahwa nanopartikel perak yang dihasilkan melalui bioreduksi dengan rebusan daun sirih hijau pada konsentrasi 100 % AgNPs 1 mM menunjukkan aktivitas antibakteri yang cukup signifikan, dengan Zona hambat yang terbentuk memiliki diameter 16 mm untuk *Staphylococcus aureus* dan 15 mm untuk *Escherichia coli.*

MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) AgNPs terhadap bakteri dapat bervariasi tergantung pada jenis bakteri dan konsentrasi AgNPs yang digunakan. Penelitian oleh Singh *et al* (2014) bahwa nanopartikel perak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap strain *P.aeruginosa* pada MIC 6,25-12,5 µg/mL. Sheikoleslami *et al* (2016) melaporkan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa nanopartikel perak MIC terhadap *S.aureus* pada konsentrasi 6,25 µg/mL.

Penelitian oleh Tesfaye *et al* (2023) melaporkan nanopartikel perak dari daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 25 dan 75 µg/mL terhadap bakteri Gram-positif (*S.aureus*) dan Gram-negatif (*P.aeruginosa*). Sejalan dengan itu, Javed *et al* (2024) menemukan bahwa nanopartikel perak dari daun suren merah (*Cedrela toona*) pada konsentrasi 125 µg/mL juga menunjukkan aktivitas antibakteri. Selain

itu, dalam penelitian ini konsentrasi terendah yang digunakan, yaitu 1%, digunakan sebagai kontrol positif (Shina dkk., 2024). Pengujian parameter zona hambat pada penelitian ini dilakukan pada konsentrasi AgNPs sebesar 25, 50, 75, 100, dan 125 µg/mL. Konsentrasi tersebut dipilih berdasarkan hasil percobaan dan mengacu pada variasi konsentrasi dalam studi sebelumnya.

Beberapa penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa ekstrak rebusan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) efektif dalam menghambat pertumbuhan berbagai bakteri patogen. Penelitian ini menggunakan metode maserasi untuk memperoleh ekstrak daun sirih, sebab menurut Chairunnisa dkk (2019) berbeda dengan metode perebusan yang menggunakan panas dan berpotensi merusak senyawa aktif. Metode maserasi dipilih dalam penelitian ini karena dinilai lebih mampu menjaga keutuhan senyawa bioaktif yang diekstraksi. Selain itu, penelitian yang mengkombinasikan ekstrak daun sirih hijau dengan nanopartikel perak yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri penyebab infeksi piogenik kulit masih terbatas. Sebagian besar studi terdahulu hanya menggunakan satu metode pengujian saja, baik itu uji zona hambat, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), maupun Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), sehingga diperlukan pendekatan yang lebih beragam.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana karakteristik warna nanopartikel perak eskstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis?
2. Berapa nilai absorbansi nanopartikel perak eskstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis?

3. Bagaimana kemampuan diameter zona hambat nanopartikel perak ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*?
4. Berapa nilai Konsentarsi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui karakteristik warna nanopartikel perak esktrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis.
2. Untuk mengetahui nilai absorbansi nanopartikel perak esktrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis.
3. Untuk mengetahui kemampuan daya hambat nanopartikekl perak ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
4. Untuk mengetahui nilai Konsentarsi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

Manfaat Teoritis

1. Memberikan informasi tentang aktivitas antibakteri nanopartikel perak ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri penyebab infeksi piogenik pada kulit, yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa.*

2. Memberikan informasi tentang pemanfaatan tumbuhan obat, khususnya daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sebagai pereduksi alami nanopartikel perak.

Manfaat Aplikatif

1. Memberikan alternatif antibakteri alami yang efektif dan ramah lingkungan untuk mengatasi infeksi kulit yang disebabkan oleh bakteri piogenik.
2. Mengembangkan pemanfaatan bahan alami dalam formulasi produk kesehatan.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bakteri uji menggunakan bakteri Gram-positif (*Staphylococcus aureus*) dan Gram-negatif (*Pseudomonas aeruginosa*) diisolasi dari penderita infeksi piogenik kulit dan bersumber dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya.
2. Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang digunakan berupa serbuk simplisia yang diperoleh dari UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu.
3. Karakterisasi nanopartikel perak diuji dengan spektrofotometer UV-Visible.
4. Uji diameter zona hambat menggunakan konsentrasi 25, 50, 75, 100, 125 µg/mL, sedangkan uji KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) menggunakan konsentrasi 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,5625; 0,7812 µg/mL.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Tumbuhan Obat dalam Perspektif Al-Qur'an

Tumbuhan merupakan elemen fundamental bagi ekosistem darat. Menurut ensiklopedia tematis, tumbuhan berperan krusial dalam menopang kehidupan di bumi. Kehilangan tumbuhan akan menyebabkan kepunahan organisme lain karena ketergantungan makhluk hidup kompleks terhadap tumbuhan sebagai sumber pangan, baik secara langsung maupun melalui rantai makanan. Keragaman dari setiap tumbuhan memilki peran yang bermanfaat bagi seluruh makhluk hidup (Kindersley, 2010). Tercantum dalam Q.S Thaha ayat 53, firman Allah SWT yang menyatakan:

الَّذِيْ جَعَلَ لَكُمُ الْاَرْضَ مَهْدًا وَّسَلَكَ لَكُمْ فِيْهَا سُبُلًا وَّاَنْزَلَ مِنَ السَّمَاۤءِ مَاۤءً فَاَخْرَجْنَا بِهٖٓ اَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتّٰى ﴿٥٣﴾

Artinya: *"Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan Yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-ja]an, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam". (QS. Taha ayat 53).*

Tafsir Al-Karim Al-Rahman fi Tafsir Kalam al-Mannan karya As-Sa'di (2012) menjelaskan bahwa air hujan diturunkan Allah SWT untuk menghidupkan kembali tanah tandus. Allah SWT menumbuhkan beragam jenis tumbuhan dari air tersebut dengan variasi bentuk, jenis, dan karakteristik yang berbeda. Ayat ini menjadi tanda betapa beragamnya tumbuhan di bumi, dan masing-masing menunjukkan karakteristik yang berbeda.

Tafsir Shihab (2012) dalam tafsir Al-Misbah menjelaskan bahwa Allah SWT memperlihatkan kebesaran-Nya melalui turunnya air hujan yang memberikan kehidupan bagi tumbuhan yang beranekaragam. Tumbuhan-tumbuhan ini

memberikan manfaat bagi manusia dan hewan, sehingga keduanya dapat memanfaatkan keberagaman tumbuhan untuk kelangsungan hidup. Kalimat "menjadikan bumi sebagai hamparan" menggambarkan penciptaan berbagai tumbuhan dengan beragam warna, bentuk, rasa, dan manfaat, yang menunjukkan kebesaran Allah dalam merancang alam semesta yang penuh dengan keberkahan.

Tumbuhan memiliki dua peran penting, yaitu sebagai sumber makanan dan bahan obat (Leksono, 2011). Seluruh makhluk yang diciptakan Allah di bumi dan alam semesta, tumbuhan memiliki dua tugas, yaitu menyembah dan melaksanakan perintah Allah dengan cara yang hanya diketahui oleh-Nya. Kehadiran tumbuhan di bumi adalah untuk memberikan manfaat bagi manusia dan hewan (Lajnah, 2010). Tercermin dalam Q.S. Yunus ayat 24, sebagaimana berikut:

اِنَّمَا مَثَلُ الْحَيٰوةِ الدُّنْيَا كَمَاۤءٍ اَنْزَلْنٰهُ مِنَ السَّمَاۤءِ فَاخْتَلَطَ بِهٖ نَبَاتُ الْاَرْضِ مِمَّا يَأْكُلُ النَّاسُ وَالْاَنْعَامُۗ حَتّٰٓى اِذَآ اَخَذَتِ الْاَرْضُ زُخْرُفَهَا وَازَّيَّنَتْ وَظَنَّ اَهْلُهَآ اَنَّهُمْ قٰدِرُوْنَ عَلَيْهَآ اَتٰىهَآ اَمْرُنَا لَيْلًا اَوْ نَهَارًا فَجَعَلْنٰهَا حَصِيْدًا كَاَنْ لَّمْ تَغْنَ بِالْاَمْسِۗ كَذٰلِكَ نُفَصِّلُ الْاٰيٰتِ لِقَوْمٍ يَّتَفَكَّرُوْنَ ﴿٢٤﴾

Artinya: "*Sesungguhnya perumpamaan kehidupan dunia adalah ibarat air yang Kami turunkan dari langit, lalu tumbuhlah karenanya macam-macam tanaman bumi yang (dapat) dimakan oleh manusia dan hewan ternak. Hingga apabila bumi itu telah sempurna keindahannya, terhias, dan pemiliknya mengira bahwa mereka pasti menguasainya (memetik hasilnya), datanglah kepadanya azab Kami pada waktu malam atau siang. Lalu, Kami jadikan (tanaman)-nya seperti tanaman yang sudah disabit, seakan-akan belum pernah tumbuh kemarin. Demikianlah Kami menjelaskan secara terperinci ayat-ayat itu kepada kaum yang berpikir.".*

Melalui ayat ini, Allah SWT mengajak manusia untuk merenungkan tanda-tanda kebesaran dan kekuasaan-Nya (Lajnah, 2010). Menurut Tafsir Shihab (2002), ayat menunjukkan suatu hakikat yang mulai tampak jelas, bahwa manusia diberi kemampuan untuk merenung dan memanfaatkan ilmu pengetahuan demi kepentingannya, hingga mampu mewujudkan berbagai tujuan hidupnya. Namun, ketika manusia merasa telah mencapai puncak pengetahuan dan berhenti merenung

atas keterbatasannya, saat itulah ketentuan Allah akan datang sebagai pengingat bahwa segala sesuatu tetap berada dalam kekuasaan-Nya.

Segala sesuatu yang ada di alam semesta berada di bawah kekuasaan penuh Allah SWT. Namun, banyak manusia yang sering kali tidak meluangkan waktu untuk merenungkan dan memahami berbagai nikmat yang diberikan-Nya. Dalam ayat ini, Allah SWT mengingatkan tentang salah satu karunia yang sering diabaikan, yaitu turunnya hujan yang menyuburkan tanah dan dari tanah yang subur tersebut tumbuh berbagai jenis tumbuhan yang berguna bagi manusia dan seluruh makhluk hidup di bumi (Arsalan dkk., 2022). Salah satu manfaat utama tumbuhan adalah sebagai sumber obat-obatan, dengan sekitar 80% populasi dunia masih bergantung pada bahan alami dari tumbuhan untuk menjaga kesehatan (Lajnah, 2010).

Tumbuhan obat merupakan tumbuhan yang memberikan manfaat untuk kesehatan dan digunakan dalam pengobatan untuk menyembuhkan atau mencegah penyakit (Larasati dkk., 2019). Sirih hijau termasuk salah satu jenis tumbuhan yang umum dimanfaatkan dalam pengobatan (Oktavia dkk., 2021). Penggunaan tumbuhan obat sudah dikenal sejak lama, termasuk dalam ajaran Islam (Wasito, 2008). Nabi Muhammad SAW bersabda dalam Musnad Imam Ahmad dari Usamah bin Syarik, sebagai berikut:

إِنَّ اللهَ لَمْ يُنْزِلْ دَاءً إِلاَّ أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً عَلِمَهُ مَنْ عَلِمَهُ وَجَهِلَهُ مَنْ جَهِلَه ُ

Artinya: *"Sesungguhnya Allah tidak menurunkan suatu penyakit, melainkan Allah juga menurunkan obatnya. Ini diketahui oleh sebagaian orang dan tidak diketahui oleh yang lain".* (HR. Ahmad, 2:278. Sanad hadis ini dinyatakan sahih oleh Syaikh Ali Hasan Al-Halabi, dan terdapat riwayat serupa dari Ibnu Mas'ud).

Hadits ini memilki makna bahwa manusia diperintahkan berobat sebagai ikhtiar untuk kesembuhan yang disertai tawakal kepada Allah. Pengobatan

merupakan perintah agama, namun pelaksanaannya memerlukan obat yang efektif dan aman. Penelitian dan pengujian diperlukan agar khasiat dan efek samping obat dapat diketahui dengan baik. Hal ini sejalan dengan tujuan syariat, yaitu *Hifzhu an-Nafs* (memelihara jiwa), yang menekankan pentingnya menjaga kesehatan dan kehidupan manusia. Pengembangan obat melalui riset mendukung pelaksanaan ajaran agama dalam menjaga kesehatan umat (Razali, 2021).

2.2 Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

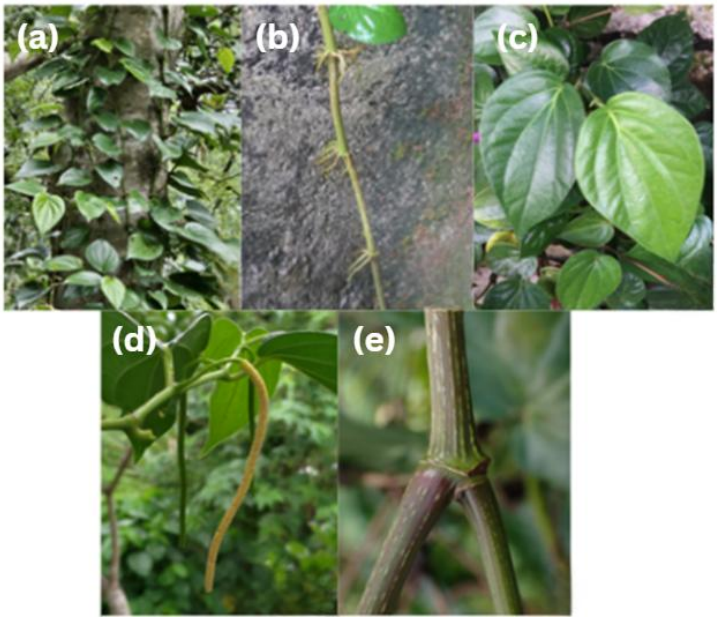
2.2.1 Morfologi

Sirih hijau (*Piper betle* L.) merupakan tumbuhan merambat yang tumbuhnya bersandar pada batang pohon lain. Pertumbuhan dari sirih hijau dapat mencapai 20 meter dan diameter batangnya berkisar 15 hingga 20 cm. Batangnya bersifat semi-kayu, berwarna hijau atau hijau kemerahan, serta memiliki bentuk silindris atau pipih secara bilateral dengan percabangan dimorfik. Sirih mampu merayap di tanah atau memanjat pohon melalui cabang vegetatif ortotropik yang dilengkapi akar adventif yang muncul dari nodus. Akar ini cenderung sedikit, jarang bercabang, dan pendek, dengan nodus yang tampak menonjol dan internodus yang memanjang (Ravindran *et al.,* 2004).

Daun sirih hijau tumbuh berselang-seling, dan dilengkapi oleh stipula. Lebar daun ini memilki ukuran sekitar 3,5-10 cm dan panjang 6-17,5 cm. Panjang petiolusnya berkisar antara 5 hingga 20 cm, dengan bentuk jantung hingga oval miring, serta memiliki ketebalan yang cukup dan sering kali tidak simetris. Lamina daunnya sedikit runcing di pangkal, memiliki tepi yang utuh dengan tipe bergelombang, dan permukaan yang halus (*glabrous*) berwarna hijau cerah atau gelap dengan urat daun yang jelas (Khairullah & Hasan, 2020). Selain itu, daun

sirih juga terkenal dengan aroma khas serta rasa yang bervariasi antara manis dan pedas (Rahman *et al.*, 2020).

Sirih hijau memilki bunga yang tersusun dalam bentuk bulir yang dilengkapi memiliki daun pelindung kecil, berukuran sekitar 1 mm dengan bentuk bulat memanjang. Panjang bulir betina berkisar antara 1,5 hingga 6 cm dan dilengkapi kepala putik berjumlah 3–5 yang berwarna putih hingga hijau kekuningan. Bulir jantan berukuran 1,5-3 cm yang terdiri dari atas dua benang sari yang pendek (Ulung, 2014).



Gambar 2.1. Bagian tumbuhan sirih hijau (*Piper betle* L.). (a) tumbuhan sirih hijau, (b) akar adventif, (c) daun, d. bunga, dan (e) batang (iNaturalist. Org)

2.2.2 Taksonomi

Klasifikasi *Piper betle* L. menurut Arambewala *et al* (2011) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Division : Magnoliophyta

Class : Magnoliopsida

Order : Piparales

Family : Piparaceae

Genus : Piper

Species : *Piper betle* (Linnaeus, 1753)

2.2.3 Kandungan dan Manfaat

Daun sirih terdapat kandungan minyak atsiri dalam kisaran 0,8–1,8%, dengan komponen utama seperti kavikol, kavibetol atau betel fenol, dan alilpirokatekol atau hidroksikavikol. Kehadiran kavikol menghasilkan aroma khas pada sirih serta menunjukkan aktivitas antibakteri yang lima kali lebih kuat dari fenol, sekaligus memiliki efek sebagai imunomodulator (Widiyastuti dkk., 2013). Selain itu, terdapat beberapa senyawa kimia dalam daun sirih hijau, meliputi saponin, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan tanin (Saidah dkk., 2022).

Kehadiran gugus hidroksil (OH) dan karbonil (CO) pada senyawa aktif daun sirih hijau berperan dalam membentuk ikatan dengan logam. Peran gugus fungsi tersebut yaitu untuk mereduksi ion Ag^{+} menjadi partikel perak berbentuk nano (Ag^{0}). Selain itu, senyawa ini juga bertindak sebagai agen penstabil yang mencegah terjadinya aglomerasi partikel dalam medium berair (Ridwan *et al.*, 2019).

Sirih hijau digunakan lebih dari 600 juta orang di seluruh dunia (Pradhan *et al.*, 2013). Dalam bidang farmakologi, daun sirih hijau memiliki potensi sebagai

antioksidan, anti-alergi, analgesik, anti-bisul, anti-diabetes, anti-serangga, anti-larva nyamuk dan antibakteri (Rahmawati & Rahmawati, 2020). Bagian daun sirih hijau bermanfaat sebagai antibakteri spektrum luas yang efektif melawan bakteri seperti *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*.

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu metode untuk memisahkan komponen dari bahan padat atau cair dengan menggunakan pelarut (Tuhuloula dkk.,2013). Ekstraski dapat dibedakan menjadi dua jenis menurut fase yang terlibat, yaitu metode ekstraksi cair-cair dan padat-cair. Prosedur ekstraksi padat-cair dipengaruhi oleh beberapa parameter, seperti lama waktu ekstraksi, temperatur yang digunakan, kecepatan pengadukan, serta jumlah pelarut yang dipakai. Secara umum, ekstraksi padat-cair dilakukan melalui berbagai metode, antara lain maserasi, refluks, sokhletasi, dan perkolasi (Febrina dkk., 2015).

Maserasi termasuk metode ekstraksi yang paling umum diaplikasikan karena sederhana dan cocok diterapkan pada skala kecil maupun industri (Agoes, 2007). Metode ini melibatkan beberapa kali pengadukan dan perendaman bahan tumbuhan yang telah dipersiapkan, baik dalam bentuk kasar maupun bubuk, ke dalam pelarut yang sesuai (Azwanida, 2015). Kelemahan metode ini yaitu, durasi ekstraksi yang relatif lama dan pemakaian pelarut dalam skala besar. Selain itu, terdapat kemungkinan senyawa tertentu tidak dapat terekstraksi secara optimal karena keterbatasan kemampuan larut pada suhu ruang (Yasacaxena dkk., 2023). Keuntungan maserasi adalah murah, mudah dilakukan, tidak melibatkan

pemanasan sehingga potensi kerusakan senyawa yang terkandung pada tumbuhan sangat rendah (Yulianingtyas & Kusmartono, 2016).

Pemilihan jenis pelarut yang kompatibel meningkatkan tingkat keberhasilan maserasi dengan memperhatikan kelarutan senyawa dalam pelarut tersebut (Yulianingtyas & Kusmartono, 2016). Etanol merupakan alkohol yang sering digunakan sebagai pelarut karena memilki tingkat polaritas yang tinggi (Dianda & Suharti, 2022). Pelarut ini disarankan oleh BPOM (Badan Pengawas Obat dan Makanan) dan *Farmakope* karena kemampuannya dalam melarutkan senyawa dengan berbagai tingkat polaritas, baik yang non-polar maupun polar (Firmansyah & Sandistira, 2020). Menurut Wendersteyt dkk (2021) etanol 96% memiliki daya serap yang baik, efisiensi tinggi dalam proses ekstraksi, tidak beracun, dan memiliki volatilitas tinggi sehingga cocok digunakan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi. Selain itu, etanol 96% menunjukkan kemampuan penetrasi sel yang lebih baik dibandingkan pelarut etanol konsentrasi rendah.

2.4 Infeksi Piogenik Kulit

Infeksi piogenik merupakan infeksi yang diakibatkan oleh mikroorganisme patogen yang menyerang jaringan luka dengan respon inflamasi bernanah sebagai respon tubuh. Sumber infeksi ini dapat berasal dari endogen maupun eksogen dan disertai peradangan, baik lokal maupun sistemik, akibat invasi mikroba yang menyebabkan terbentuknya nanah (Sangwan *et al*., 2016). Nanah (*pus*) merupakan cairan berwarna kuning keputihan yang terbentuk akibat akumulasi sel-sel bakteri, leukosit, jaringan mati, dan cairan tubuh sebagai bagian dari respon imun tubuh terhadap infeksi (Mantravadi *et al.*, 2015).

Infeksi kulit dan jaringan lunak yang dipicu oleh bakteri piogenik, baik yang bersifat aerob atau anaerob, sering terjadi pada luka traumatis, luka bakar, dan luka pascaoperasi (Scalise *et al*., 2015). Sekitar 82,3% kasus infeksi ini disebabkan oleh infeksi tunggal bakteri (monomikroba) sementara sisanya (17,7%) melibatkan lebih dari satu jenis bakteri (polimikroba). Bakteri piogenik yang paling sering ditemukan antara lain *Staphylococcus aureus* (24,2%), *Pseudomonas* spp. (21,4%), *Escherichia coli* (14,8%), *Proteus* spp. (8,8%), *Citrobacter* spp. (8,2%), *Enterococcus* spp. (6,6%), *Klebsiella* spp. (6,1%), dan *Streptococcus* spp. (2,2%) (Sangwan *et al*., 2016).

2.5 Bakteri Piogenik

2.5.1 *Staphylococcus aureus*

2.5.1.1 Klasifikasi

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut Sahli (2023) meliputi:

Kingdom : Bacteria

Phylum : Furmicutes

Class : Bacilli

Order : Cocacceae

Family : Staphylococcaceae

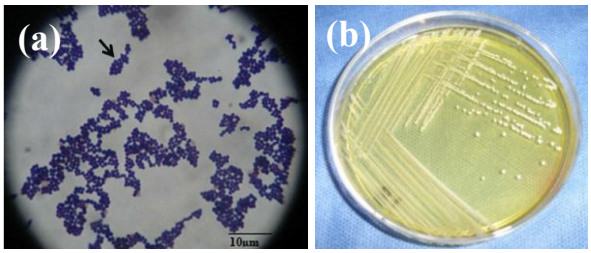
Genus : Staphylococcus

Species : *Staphylococcus aureus* (Rosenbach, 1884)

2.5.1.2 Karakteristik

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram-positif dan memiliki bentuk bulat yang tersusun kelompok menyerupai anggur. Tipe respirasi dari bakteri ini adalah anaerob fakultatif. Selain itu, tidak memiliki kemampuan motilitas, dan

tidak membentuk spora. Diameter yang dimilki berkisar antara 0,5 hingga 1,5 µm (Gill *et al*., 2024; Khairunnisa dkk., 2023). *Staphylococcus aureus* menghasilkan koloni dengan ukuran 2-4 mm, berbentuk bulat, cembung, dan memilki tepian rata. Bakteri ini mampu membentuk pigmen berwarna kuning keemasan. Warna tersebut dihasilkan oleh produksi pigmen *lipochrome* (Dewi, 2013).



Gambar 2.2. Bakteri *S. aureus*. (a) pewarnaan Gram bakteri perbesaran 100 X dan (b) koloni bakteri pada media Muller-Hinton Agar (Cervantes *et al.*, 2015; Jahan *et al.*, 2015)

Staphylococcus aureus dapat tumbuh pada suhu 7°C hingga 48°C. Akan tetapi, bakteri ini tumbuh optimal pada suhu 37°C. Bakteri ini mampu bertahan dalam kisaran pH 4,0 hingga 9,3 dengan pH ideal di antara 7,0 dan 7,5. Produksi toksin akan sangat rendah jika pH lingkungan di bawah 6. Selain itu, bakteri ini dapat berkembang pada aktivitas air (aw) minimum 0,83, namun produksi toksin terhenti jika aktivitas air di bawah 0,86 (Arisman, 2009).

2.5.1.3 Patogenitas

Staphylococcus aureus termasuk bakteri patogen yang dapat menimbulkan beragam penyakit. Kemampuan *S. aureus* untuk menimbulkan penyakit tergantung pada dua faktor utama, yaitu kemampuan merusak jaringan secara langsung dan kemampuan untuk tumbuh serta menghindari sistem kekebalan tubuh inang.

Kerusakan jaringan diakibatkan oleh beberapa faktor, termasuk *surface-associated factors,* enzim ekstraseluler, dan toksin. Ketiga faktor tersebut berkontribusi pada proses perlekatan, penetrasi, kerusakan jaringan, dan toksisitas. Toksin sebagian besar dikodekan oleh gen plasmid, dan sebagian lainnya oleh gen kromosom (Yuwono, 2012).

Staphylococcus aureus memiliki berbagai faktor virulensi yang memungkinkannya menyebabkan infeksi. Faktor-faktor ini meliputi protein permukaan yang mendukung kolonisasi jaringan, seperti protein adhesin dan protein pengikat fibrinogen. Selain itu, bakteri ini memproduksi invasin seperti leukocidin dan hyaluronidase yang membantu dalam penyebaran bakteri. Bakteri ini juga memiliki kapsul dan Protein A yang menghambat fagositosis serta memproduksi enzim katalase dan karotenoid yang meningkatkan ketahanannya di dalam fagosit. Toksin yang dihasilkan, seperti hemolysin dan eksotoksin (SE-A, B, C, D, E, G, dan TSST), merusak jaringan inang dan menimbulkan gejala penyakit (Anas, 2024).

2.5.2 *Pseudomonas aeruginosa*

2.5.2.1 Klasifikasi

Klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa* menurut Diggle & Whiteley (2019) yaitu:

Kingdom : Bacteria

Phylum : Pseudomonadota

Class : Gammaproteobacteria

Order : Pseudomonadales

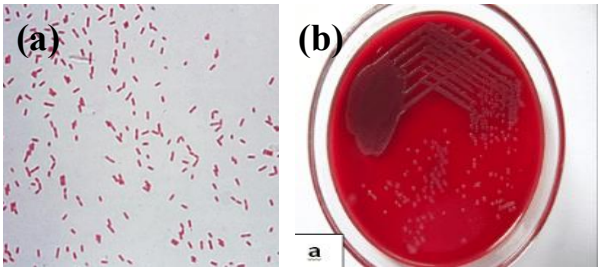
Family : Pseudomonadaceae

Genus : Pseudomonas

Species : *Pseudomonas aeruginosa* (Schröter, 1872)

2.5.2.2 Karakteristik

Pseudomonas aeruginosa memiliki bentuk batang dan tergolong dalam bakteri Gram-negatif serta. Respirasi bakteri ini bersifat anaerob fakultatif (Satyaprakash *et al*., 2010). Ukuran bakteri ini berkisar 0,5-0,8 mikron untuk lebar dan 1,5-3,0 mikron untuk panjang. Bakteri ini dilengkapi dengan flagel monotrik dan ditemukan secara luas di tanah, air, flora, kulit, serta sebagian besar lingkungan manusia (Saussereau & Debarbieux, 2012). Koloni *Pseudomonas aeruginosa* umumnya halus dan berfluoresensi hijau, sering kali menghasilkan pigmen biru yang disebut piosianin (*pyocyanin*), yang tidak bersifat fluoresen dan dapat larut dalam media agar (Brooks dkk., 2005). Pertumbuhan optimal bakteri ini pada suhu 37°C, tetapi mampu bertahan hidup dalam rentang suhu antara 4°C hingga 42°C (LaBauve & Wargo, 2015).



Gambar 2.3. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. (a) pewarnaan Gram bakteri dan (b) koloni bakteri di media *blood agar plate* (BAP) (Rao *et al.,* 2019; Todar, 2012)

Dinding sel *Pseudomonas aeruginosa*, mirip dengan bakteri Gram-negatif pada umumnya, terdiri dari tiga lapisan yaitu membran dalam atau sitoplasmik, lapisan peptidoglikan, dan membran luar. Membran luarnya tersusun atas fosfolipid, protein, dan lipopolisakarida (LPS). Akan tetapi, bakteri ini memiliki toksisitas yang lebih rendah. LPS dari sebagian besar strain *P. aeruginosa* mengandung heptosa, asam 2-keto-3-deoxyoctonic, dan asam lemak hidroksi, selain polisakarida inti dan rantai samping (Iglewski, 1996).

2.5.2.3 Patogenitas

Pseudomonas aeruginosa menjadi patogen ketika memasuki area dengan pertahanan tubuh yang terganggu, seperti selaput lendir dan kulit yang mengalami kerusakan akibat luka, penggunaan kateter intravena, atau pada kondisi neutropenia yang dialami pasien kemoterapi. Bakteri ini dapat menempel dan berkembang biak di lapisan mukosa atau kulit, melakukan invasi pada area lokal, dan memicu infeksi sistemik (Brooks *et al.,* 2005). *Pseudomonas aeruginosa* memiliki lapisan lendir bersifat antigenik yang menyulitkan proses fagositosis. Sebagian besar strain *Pseudomonas aeruginosa* juga memanfaatkan faktor virulensi, yaitu eksotoksin A, yang dapat menghambat sintesis protein dan menyebabkan nekrosis. Selain itu, bakteri ini menghasilkan eksoenzim ExoU yang merusak membran plasma sel eukariotik dan mengakibatkan lisis sel (Soedarto, 2015).

2.6 Nanopartikel

Nanoteknologi adalah kemampuan untuk merestrukturisasi materi pada tingkat atom, serta mengeksploitasi sifat dan fenomena yang berbeda pada skala tersebut. Tujuan nanoteknologi adalah menciptakan bahan, perangkat, dan sistem dengan

sifat dan fungsi baru melalui rekayasa struktur kecilnya. Produk dari nanoteknologi adalah nanopartikel (Singh *et al.*, 2008).

Nanopartikel merupakan partikel berukuran kecil, yaitu antara 1 hingga 100 nanometer (Abdassah, 2017). Material nanopartikel memiliki sifat yang berbeda tergantung pada ukuran partikelnya. Sifat nanopartikel yang spesifik dipengaruhi oleh ukuran, morfologi, dan bentuk partikel (Purnomo dkk., 2017). Menurut Gopal (2016) kemampuan bakterisidal cenderung meningkat ketika ukuran partikel semakin kecil (Gopal *et al.*, 2016). Nanopartikel memiliki keunggulan karena ukurannya yang sangat kecil, sehingga mampu menembus ruang antar sel yang terlalu sempit untuk dimasuki partikel koloidal berukuran besar (Buzea *et al.,* 2007).

Nanopartikel dapat diklasifikasikan menjadi dua berdasarkan bahan penyusunnya, yaitu nanopartikel organik dan anorganik. Nanopartikel organik terbuat dari material berbasis karbon, seperti polimer dan biomolekul. Sementara itu, nanopartikel anorganik terdiri dari material logam sebagai komponen utamanya. Menurut jenis logam yang membentuknya, nanopartikel anorganik terbagi menjadi tiga kelompok, yaitu nanopartikel logam mulia (emas, perak, dan platinum), nanopartikel magnetik (besi, kobalt, nikel, dan tembaga), dan nanopartikel semikonduktor yang tersusun dari bahan seperti titanium dioksida (TiO_2) dan zink oksida (ZnO) (Kucuk *et al.*, 2023). Menurut Wahyudi dkk (2011) nanopartikel logam telah menarik perhatian luas karena aplikasinya di berbagai bidang seperti optik, elektronik, biologi, katalis, dan kedokteran, dengan salah satu jenis nanopartikel logam yang paling umum disintesis adalah nanopartikel perak (AgNPs) (Saravan *et al.*, 2018).

2.6.1 Nanopartikel Perak (AgNPs)

Perak merupakan logam transisi berwarna putih dengan permukaan berkilau, mudah dibentuk, dan bersifat stabil dalam bentuk logamnya. Namun, ketika berada dalam bentuk ion, baik Ag^{+} maupun $Ag^{2+,}$ perak menunjukkan reaktivitas yang lebih tinggi (Dunn & Edwards-Jones, 2004). Salah satu keunggulan perak adalah toksisitas rendah terhadap organisme yang lebih tinggi (Kvitek *et al*., 2011). Menurut Dwandaru & Janah (2018) ion perak tahan terhadap suhu tinggi, netral saat larut dalam air dan rentan terhadap asam, garam, dan basa ringan. Selain itu, ion ini kehilangan elektron pada kulit terluarnya membuat ion perak menghasilkan tegangan elektrostatik. Namun, dalam bentuk nano, perak memiliki permukaan yang lebih luas sehingga meningkatkan efektivitas kerjanya. Sejak zaman kuno, perak telah dimanfaatkan dalam bidang kesehatan karena memilki kemampuan untuk menyembuhkan dan melawan penyakit, salah satunya digunakan dalam perawatan luka (Kaiser *et al*., 2023).

Nanopartikel perak dikenal memiliki berbagai keunggulan, seperti antimikroba, anti-inflamasi, antijamur, antivirus, serta kemampuan menghambat angiogenesis dan aktivitas platelet (Mitra *et al.,* 2012). Nanopartikel ini memiliki reaktivitas dan efektivitas yang lebih tinggi sebagai agen antimikroba dengan spektrum luas. Selain itu, memiliki ketahanan yang lebih baik terhadap perubahan suhu dan kelembapan dibandingkan antimikroba konvensional, serta tidak memicu resistensi bakteri (Rai *et al*., 2016).

Nanopartikel perak dipengaruhi oleh berbagai faktor selama proses sintesis yang menentukan kualitas hasil akhirnya. Beberapa faktor tersebut antara lain:

1. Metode sintesis, dapat dilakukan melalui berbagai metode, mulai dari teknik fisika, kimia, hingga biologis dengan menggunakan bahan organik, anorganik, atau organisme hidup (Patra & Baek, 2014). Tumbuhan dan mikroorganisme menjadi salah sumber utama dalan sintesis secara biologis. Akan tetapi, penggunaan tumbuhan lebih banyak dipilih karena prosesnya lebih sederhana, cepat, hemat biaya, serta menghasilkan nanopartikel yang lebih biokompatibel dan aplikatif di bidang medis. Berbagai komponen yang terdapat dalam tumbuhan seperti protein, asam amino, asam organik, vitamin, flavonoid, alkaloid, polifenol, terpenoid, senyawa heterosiklik, hingga polisakarida berperan dalam mereduksi ion logam serta bertindak sebagai *capping agent* selama pembentukan nanopartikel (Singh *et al*., 2015).
2. Konsentrasi prekursor dan reduktor, menurut Kaabipour & Hemmati (2021) prekursor alam sintesis nanopartikel biasanya berupa senyawa logam yang dapat menghasilkan ion logam saat direduksi. Semakin tinggi konsentrasi prekursor, semakin banyak ion perak yang bereaksi menjadi nanopartikel, sehingga jumlah dan ukuran nanopartikel meningkat. Namun, konsentrasi yang terlalu tinggi dapat menyebabkan agregasi, menghasilkan nanopartikel yang lebih besar dan tidak stabil. Reduktor adalah bahan yang dipakai untuk mereduksi ion logam menjadi nanopartikel logam. Konsentrasi ekstrak tumbuhan yang terlalu tinggi juga dapat menyebabkan ketidakstabilan dan agregasi nanopartikel.
3. Suhu merupakan faktor penting dalam mengendalikan ukuran dan morfologi nanopartikel perak (AgNPs). Peningkatan suhu dapat mempercepat laju reaksi sehingga menguntungkan untuk sintesis nanopartikel dengan lebih cepat. Namun, suhu yang terlalu tinggi (di atas 60 °C) dapat menyebabkan denaturasi

senyawa dalam ekstrak tumbuhan yang mengakibatkan potensi reduksi menurun dan menghasilkan nanopartikel dengan ukuran yang lebih besar serta cenderung mengalami aglomerasi (Khan *et al*., 2018). Suhu yang lebih rendah, seperti 20 °C, menghasilkan nanopartikel dengan ukuran yang lebih kecil (Madivioli *et al*., 2020). Menurut Almatroudi (2020) bahwa suhu kamar, sekitar 25-37°C merupakan suhu optimal untuk sintesis nanopartikel logam secara biologis.

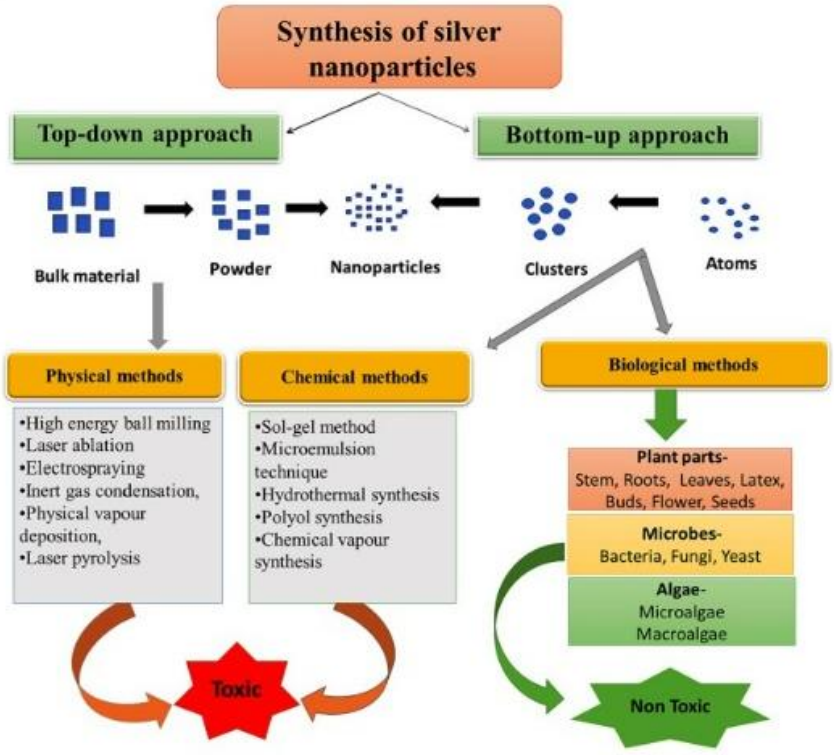
4. Waktu, semakin lama waktu reaksi, semakin banyak nanopartikel yang terbentuk. Namun, peningkatan jumlah nanopartikel ini bersifat sementara, karena setelah mencapai titik tertentu, nanopartikel cenderung mengalami aglomerasi. Proses aglomerasi ini berpotensi membuat ukuran nanopartikel membesar, yang tidak diinginkan dalam beberapa aplikasi. Namun, di sisi lain, jika nanopartikel yang disintesis cukup stabil, proses aglomerasi dapat diminimalkan, sehingga ukuran nanopartikel tetap konsisten (Chugh *et al*., 2021).

2.6.2 Pembuatan Nanopartikel

Proses pembuatan nanopartikel perak dibedakan menjadi dua jenis metode, yaitu *top-down* dan *bottom-up* (Lee & Jun, 2019). *Top-down* merupakan teknik untuk mengurangi ukuran material yang lebih besar menjadi skala nano, seperti ablasi laser, *electrosparying*, *ball milling*, dan litografi (Mursal, 2018). Akan tetapi, metode *Top-down* memilki kelemahan seperti berbahaya bagi lingkungan, morfologi nanopartikel yang dihasilkan cenderung tidak seragam sehingga dapat mempengaruhi sifat kimia dan fisik nanopartikel yang disintesis. *Bottom-up* melibatkan nanopartikel disintesis dari molekul-molekul kecil yang bergabung untuk membentuk partikel berukuran nano. Nanopartikel yang dibuat dengan

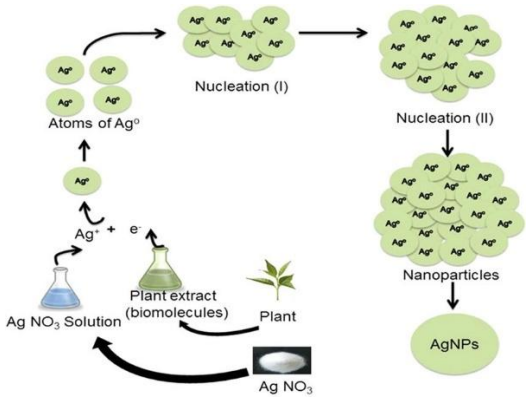
metode *bottom-up* memiliki stabilitas lebih baik dibandingkan metode top-down karena prosesnya tidak mengubah sifat asli bahan (Nadeak, 2012).

Sintesis hijau merupakan bagian dari pendekatan *bottom-up* yang berhubungan dengan metode biologis (Arya *et al*., 2022). Pembuatan nanopartikel yang memanfaatkan ekstrak tumbuhan sebagai reduktor memilki keunggulan, seperti ramah lingkungan, hemat biaya, dan mudah untuk ditingkatkan ke skala besar tanpa memerlukan suhu tinggi, tekanan, energi, dan bahan kimia beracun (Haque & Patra, 2021). Menurut Almatroudi (2020) penggunaan tumbuhan dalam sinetsis nanopartikel perak mampu menyerap dan mengakumulasi ion logam anorganik dari lingkungan sekitarnya.



Gambar 2.4. Metode sintesis nanopartikel perak (Isola *et al.*, 2021)

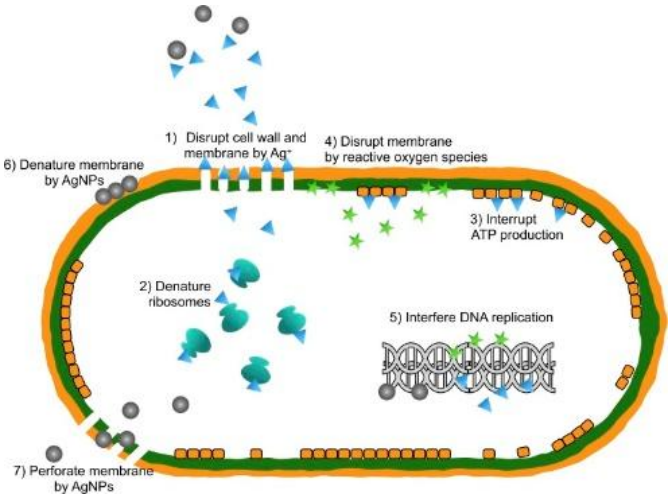
Tahapan pertama sintesis hijau, yaitu bioreduksi atau proses pengurangan ion logam prekursor menjadi atom logam oleh senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak tumbuhan. Senyawa bioaktif tersebut bertindak sebagai pereduksi dan penstabil. Selain itu, senyawa pada ekstrak tumbuhan mengandung gugus hidroksil (-OH) yang mampu memberikan elektron kepada ion Ag^+ (ion perak). Dalam bentuk ion, Ag^+ memiliki muatan positif, yang menyebabkan ion-ion tersebut saling tolak-menolak. Namun, setelah ion Ag^+ direduksi menjadi atom perak (Ag^0), atom-atom tersebut menjadi netral dan tidak lagi memiliki muatan. Proses ini memungkinkan atom perak saling tarik-menarik dan membentuk ikatan logam, yang akhirnya menghasilkan kumpulan atom perak dalam ukuran yang sangat kecil, yaitu nanopartikel (Tapa *et al.,* 2016). Tahapan kedua yaitu nukleasi, setelah reduksi, Ag^0 mengalami proses aglomerasi bertahap, yang dikenal sebagai nukleasi tahap I (Ag^0 menempel satu sama lain membentuk nukleus kecil) dan II (menarik lebih banyak atom Ag^0) untuk membentuk nanopartikel (Filho *et al.,* 2023). Proses nukleasi atom perak nol valensi (Ag^0) menghasilkan pembentukan nanopartikel perak (AgNP), sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5. Mekanisme sintesis hijau nanopartikel perak (Jabeen *et al.,* 2021)

2.6.3 Potensi Nanopartikel Perak sebagai Antibakteri

Nanopartikel perak (AgNPs) memiliki mekanisme antibakteri yang kompleks dan efektif karena kemampuannya melepaskan ion perak (Ag^+) pada sel bakteri (Bapat *et al.,* 2018). Proses nanopartikel perak dalam menghambat pertumbuhan bakteri menurut Yin *et al* (2020) sebagai berikut:



Gambar 2.6. Mekanisme antibakteri menggunakan nanopartikel perak (Yin *et al*., 2020)

1. Ion perak (Ag^+) yang dilepaskan oleh nanopartikel perak menempel atau melewati dinding sel dan membran sitoplasma sehingga menyebabkan adanya gangguan dinding sel dan membran sitoplasma pada bakteri.
2. Ion perak menyebabkan denaturasi ribosom yang dapat menghambat sintesis protein.
3. Produksi adenosin trifosfat (ATP) terganggu karena ion perak menonaktifkan enzim-enzim pernapasan yang terdapat pada membran sitoplasma.

4. Spesies oksigen reaktif yang dihasilkan oleh rantai transpor elektron yang putus dapat menyebabkan gangguan membran.
5. Spesies oksigen reaktif mengikat asam deoksiribonukleat (DNA) mencegah proses replikasi dan perbanyakan sel.
6. Nanopartikel perak terakumulasi di pori-pori dinding sel, menyebabkan denaturasi membran dan mengganggu kestabilan sel.
7. Nanopartikel perak dapat menembus membran sitoplasma secara langsung dan menyebabkan perforasi, yang berpotensi mengakibatkan pelepasan organel seluler dan akhirnya menyebabkan kematian sel.

Potensi antibakteri AgNPs juga dipengaruhi oleh ketebalan dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri Gram-negatif memiliki tingkat kerentanan yang lebih besar terhadap AgNPs dibandingkan Gram-positif. Perbedaan struktur membran sel, khususnya pada komponen peptidoglikan, menjadi faktor utama dalam tingkat kerentanan bakteri terhadap nanopartikel perak (Rai *et al*., 2014).

Bakteri Gram-positif mempunyai dinding sel yang lebih tebal karena tersusun atas lapisan peptidoglikan sekitar 30 nm. Sementara itu, lapisan pada dinding sel bakteri Gram-negatif lebih tipis, hanya sekitar 3-4 nm. Ketebalan dinding sel yang lebih besar pada bakteri Gram-positif, dikombinasikan dengan muatan negatif peptidoglikan, menghambat penetrasi ion perak dan mencegah kerusakan struktur sel (Dakal *et al.*, 2016). Selain itu, adanya lipopolisakarida (LPS) pada membran sel bakteri Gram-negatif berfungsi menjaga integritas struktural, tetapi juga meningkatkan muatan negatif yang meningkatkan adhesi AgNPs (Pal *et al.,* 2007).

2.7 Uji Antibakteri

2.7.1 Karakterisasi Spektrofotometer UV-Visible

Spektrofotometer UV-Vis digunakan dalam analisis stabilitas nanopartikel dengan mengamati puncak absorbansi pada panjang gelombang tertentu. Penyerapan energi cahaya UV-Vis oleh elektron terluar perak menjadi prinsip utama dalam karakterisasi nanopartikel perak menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Eksitasi pada lapisan ini memicu gerakan kolektif elektron yang menghasilkan gelombang transversal, yang dikenal sebagai Resonansi Plasmon Permukaan (*Surface Plasmon Resonance*). Proses ini memungkinkan pengamatan karakteristik absorbansi cahaya yang dipantulkan oleh nanopartikel, yang membantu dalam memprediksi berbagai sifat nanopartikel (Masykuroh & Heny, 2022). Keunggulan karakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis terletak pada analisis yang cepat, memiliki akurasi dan presisi yang tinggi, serta mudah dalam penggunaannya (Khandel & Kumar, 2016).

Pengukuran nanopartikel perak dilakukan pada panjang gelombang 300-800 nm. Serapan puncak maksimum nanopartikel perak berada dalam jangkauan panjang gelombang 400-500 nm. Apabila nanopartikel perak belum terbentuk, panjang gelombang serapan akan terdeteksi pada rentang 200-250 nm, yang mengindikasikan adanya ion perak yang belum tereduksi (Oktavia & Suyanto, 2021).

2.7.2 Metode Difusi Cakram

Metode difusi cakram, yang pertama kali diperkenalkan oleh Bauer dan Kirby tahun 1956, diakui sebagai metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antimikroba. Teknik ini menggunakan koloni bakteri yang diinokulasi ke

permukaan pelat agar yang sudah dipadatkan. Cakram kertas yang telah diresapi oleh larutan uji atau zat antibakteri ditempatkan pada bagian atas permukaan agar yang telah diinokulasi. Sampel uji yang diaplikasikan pada cakram akan berdifusi secara perlahan melalui media agar, sehingga bakteri yang sensitif terhadap larutan uji tersebut akan mengalami penghambatan pertumbuhan di sekitar cakram. Zona hambat diamati setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Aspek yang diamati adalah terbentuknya zona bening di sekitar cakram, yang mengindikasikan area penghambatan pertumbuhan bakteri oleh lartuan uji (Khan *et al.*, 2019).

Metode difusi cakram memilki kelebihan, diantaranya sederhana sehingga mudah dilakukan. Selain itu, metode ini memungkinkan pengujian sensitivitas berbagai mikroorganisme pada konsentrasi tertentu. Akan tetapi, metode ini memiliki keterbatasan, salah satunya yaitu senyawa antimikroba yang diuji harus bersifat hidrofilik agar dapat berdifusi dengan baik melalui media agar, yang berarti tidak semua jenis antimikroba cocok untuk diuji dengan metode ini (Anggrain dkk., 2020; Nisya dkk., 2022).

Kekuatan zona hambat yang terbentuk dapat digunakan untuk mengevaluasi efektivitas aktivitas antimikroba. Berdasarkan diameter zona hambat, aktivitas antimikroba dikelompokkan menjadi empat kategori menurut metode yang diusulkan oleh Davis dan Stout. Kategori zona hambat dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Klasifikasi zona hambat menurut Davis & Stout

Clear Zone Diameter	Inhibitory Activity
≤ 5 mm	Weak
5-10 mm	Medium
11-20 mm	Strong
≥ 21 mm	Very Strong

Sumber: Pratiwi *et al* (2023)

Beberapa faktor yang mempengaruhi besarnya diameter zona hambat antara lain konsentrasi suspensi mikroba, ketebalan lapisan media agar, dan pH media. Kepadatan suspensi mikroba yang tinggi pada permukaan media dapat menyebabkan ukuran zona hambat yang lebih kecil. Faktor lainnya yaitu laju difusi senyawa antimikroba dan interaksi antara antibiotik dengan komponen media (Sari *et al*., 2022).

2.7.3 Metode Dilusi

Metode dilusi dipakai untuk mengukur Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). KHM menunjukkan konsentrasi terendah suatu zat yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba, sementara KBM yaitu konsentrasi terendah yang dapat membunuh mikroba. Metode dilusi terbagi menjadi dua metode, yaitu dilusi cair dan dilusi padat. Dilusi cair digunakan untuk mengukur KHM, sedangkan dilusi padat digunakan untuk menentukan KBM. Metode dilusi cair, dilakukan pengenceran bertahap dari agen antimikroba dalam media cair yang lalu dicampurkan dengan mikroba uji dengan menggunakan *well 96 microplate*. Perlakuan dari metode ini diinkubasi pada suhu 37°C dengan kurun waktu 24 jam. Prinsip metode ini adalah mengidentifikasi konsentrasi terendah agen antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba, yaitu ditandai dengan media tetap jernih. (Pratiwi, 2008).

Metode dilusi padat merupakan kelanjutan dari KHM, yaitu dilakukan dengan inokulasi mikroba uji ke media agar. Media diinkubasi dengan suhu 37°C selama 18-24 jam. KBM diidentifikasi sebagai konsentrasi terendah di mana tidak ditemukan adanya koloni bakteri yang tumbuh pada media agar (Hasriyani dkk., 2020).

Metode dilusi memiliki beberapa keuntungan, salah satunya adalah kemudahan interaksi antara bahan uji dan bakteri karena suspensi bakteri tersebar secara merata dalam media cair, sehingga meningkatkan kepekaan deteksi. Selain itu, metode ini juga memungkinkan pengambilan hasil kuantitatif, yang memberikan informasi mengenai jumlah konsentrasi zat tertentu yang dibutuhkan dengan tujuan menghambat atau membunuh mikroorganisme diuji (Hasriyani dkk., 2020). Akan tetapi, kelamahan metode ini adalah proses pengerjaannya yang cukup rumit (Rahmah dkk., 2024).

2.8 Levofloxacin

Levofloxacin merupakan antibiotik generasi ketiga dari kelompok *fluoroquinolone* dengan spektrum luas terhadap bakteri Gram-negatif dan Gram-positif. Antibiotik ini dianggap aman dan efektif, serta termasuk dalam daftar obat esensial yang direkomendasikan oleh *World Health Organization* (WHO) (Bush *et al*., 2011). Levofloxacin dimanfaatkan untuk mengobati berbagai infeksi, seperti sinusitis maksilaris akut, eksaserbasi bakteri pada bronkitis kronis, pneumonia yang didapat di komunitas, infeksi pada kulit dan jaringan lunak, infeksi urinaria, pielonefritis, serta infeksi lain yang ditimbulkan oleh bakteri yang menunjukkan sensitivitas terhadap levofloxacin (Bower *et al*., 2023).

Levofloxacin bekerja dengan menghambat aktivitas dua enzim kunci pada bakteri, yaitu DNA girase dan topoisomerase IV. DNA girase berperan dalam menggulung dan membuka struktur DNA, sedangkan topoisomerase IV membantu memisahkan untai DNA hasil replikasi. Levofloxacin membentuk kompleks dengan kedua enzim tersebut sehingga mengganggu proses replikasi DNA. Akibat

terganggunya replikasi, pembelahan sel bakteri terhambat dan berujung pada kematian sel (Andersonn, 2008).

2.9 DMSO (Dimetil Sulfoksida)

DMSO atau dimetil sulfoksida yang secara kimia dirumuskan sebagai C_2H_6OS merupakan cairan tidak berbau, tidak berwarna dan bersifat higroskopis karena mampu menarik molekul air dari lingkungan sekitarnya. Karakteristik tersebut menjadikannya sebagai pelarut polar yang dapat melarutkan zat polar dan nonpolar serta kerap digunakan sebagai kontrol negatif (Cheng *et al*., 2015). DMSO banyak dimanfaatkan karena memiliki toksisitas yang rendah, sehingga aman digunakan dalam bidang farmasi dan tidak mencemari lingkungan. Selain itu, DMSO sering dijadikan pilihan pelarut alternatif selain menggunakan aquades (Hidayah dkk., 2016).

DMSO dengan titik didih yang tinggi dapat menguap secara perlahan pada tekanan normal. Sebagai pelarut organik dengan karakteristik menyerupai air, DMSO tidak bersifat bakterisidal dan tidak mengganggu aktivitas biologis mikroba. Oleh karena itu, efek antibakteri yang diamati dapat dipastikan berasal dari senyawa uji, bukan dari pengaruh DMSO (Huda dkk., 2019).

BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini adalah eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap, tahap pertama untuk mengetahui diameter zona hambat nanopartikel perak ekstrak daun sirih hijau dengan tingkat konsentrasi 25, 50, 75, 100, 125 µg/mL. Selain itu, sebagai pembanding digunakan kontrol positif berupa levofloxacin 1% dan kontrol negaif berupa DMSO 5%, dengan perlakuan sebanyak 3 ulangan. Tahap kedua untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dengan mikrodilusi pada konsentrasi 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,5625; 0,7812 µg/mL, dengan perlakuan sebanyak 3 ulangan. Kontrol positif dilakukan dengan menggunakan suspensi bakteri uji untuk mengamati pertumbuhan bakteri, sementara kontrol negatif digunakan untuk memeriksa kontaminasi media dengan menggunakan media pertumbuhan NB. Bakteri target dalam penelitian ini yaitu *S.aureus* dan *P.aeruginosa*.

3.2 Waktu dan Tempat

Rangkaian penelitian, yang mencakup karakterisasi nanopartikel perak dan uji aktivitas antibakteri, dilaksanakan pada bulan Januari hingga April 2025 dan bertempat di Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Islam Malang.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel bebas

Variabel bebas dari penelitian ini yaitu konsentrasi dari bahan uji, yang meliputi 25, 50, 75, 100, dan 125 µg/mL untuk diameter zona hambat. Uji KHM dan KBM dengan konsentrasi 12,5; 6,25; 3,125; 1,5625; 0,7812 µg/mL.

3.3.2 Variabel terikat

Variabel terikat penelitian ini yaitu karakterisasi nanopartikel perak, diameter zona hambat, tingkat kekeruhan larutan untuk KHM, dan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media untuk KBM.

3.3.3 Variabel kontrol

Variabel kontrol penelitian ini meliputi jenis media, ukuran diameter cakram kertas, waktu inkubasi dan suhu inkubasi.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Laminar Air Flow* (ESCO AHC-4A1), autoklaf (Hirayama HVE-50), inkubator (Memmert), spektrofotometer UV-Vis (GENESYS-50), *rotary evaporator* (IKA RV 3), sentrifugasi (DLAB D2012), *colony counter* (Stuart SCG funkegerber), timbangan analitik (SARTORIUS), *hot plate* (THERMO), vortex (BIO-RAD), jangka sorong (DELI), rak tabung reaksi (MICO), cawan petri (pyrex), *beaker glass* 500 mL (Iwaki), labu erlenmeyer 500 mL (Iwaki), gelas ukur 1000 mL (Iwaki), tabung reaksi (Iwaki), *magnetic stirring bar* (BEL-ART), bunsen (MEDICA), jarum ose, botol vial 10 mL, pinset, mikropipet 10-100 µl (Bio-Rad), Whatman *filter paper* 90 mm (Cytiva), kertas cakram 6 mm (MACHEREY NAGEL), *microplate 96 well* (ONE-MED),

kuvet, spatula, *cell spreader,* corong gelas, tip, aluminium foil, plastik wrap, plastik tahan panas (Petromax), *swab* steril, dan kertas label.

3.4.2 Bahan

Bahan-bahan dalam penelitian ini adalah serbuk daun sirih hijau (*Piper betle* L.*),* $AgNO_3$ (Merck), spritus, etanol 96%, aquades steril, *Mueller Hinton Agar* (MHA) (Merck), *Mueller Hinton Broth* (MHB) (Merck), *Blood Agar Plate* (BAP), levofloxacin, DMSO (Merck), asam sulfat (H_2SO_4), barium klorida ($BaCl_2$), natrium klorida (NaCl 0,9%), amies transport medium, serta isolat bakteri dari infeksi piogenik kulit, yaitu *Staphylococcus aureus* kode P-6332 dan *Pseudomonas aeruginosa* kode P-6149.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Ekstraksi

Ekstraksi daun sirih hijau menggunakan maserasi dengan etanol 96% sebagai pelarut dengan perbandingan 1:9. Serbuk daun sirih hijau ditimbang sebanyak 200 gram kemudian ditambahkan 1800 ml pelarut. Larutan tersebut dimaserasi selama 72 jam dalam suhu ruang dan sesekali diaduk. Setelah proses perendaman selesai, sampel disaring dengan kertas saring Whatman no.1 dan corong gelas untuk memisahkan filtrat dan ampasnya. Filtrat yang diperoleh ditampung dalam erlenmeyer dan proses penguapan dilakukan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan kecepatan 120 rpm hingga didapatkan ekstrak pekat. Ekstrak pekat tersebut selanjutnya disimpan pada suhu 4°C untuk keperluan analisis lanjutan (Isnarianti dkk., 2013; Rosidah & Afizia, 2012) dengan modifikasi.

3.5.2 Sintesis Nanopartikel Perak

Metode sintesis nanopartikel perak dengan reduktor ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) mengacu pada penelitian (Purnamasari, 2015) dengan modifikasi. Perak nitrat ($AgNO_3$) ditimbang sebanyak 1 mM (0,0849 gram) kemudian dilarutkan dengan aquades 500 mL. Larutan $AgNO_3$ diambil sebanyak 95 mL dan ditambahkan 5 mL ekstrak daun sirih hijau, kemudian diaduk menggunakan *magnetic* stirer di atas *hotplate* serta diamati hingga muncul perubahan warna sebagai indikator reaksi. Proses pembentukan nanopartikel perak ditunjukkan melalui perubahan warna larutan, yaitu dari kuning bening menjadi kecokelatan. Sampel AgNPs dipindahkan ke dalam *tube* kemudian dilanjutkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 15.000 rpm selama 15 menit. Setelah sentrifugasi, proses pencucian perlu dilakukan sebanyak 2 kali menggunakan aquades untuk mendapatkan pellet. Proses pengeringan pellet dilakukan dalam oven pada suhu 45°C selama 24 jam.

3.5.3 Karakterisasi Nanopartikel Perak

3.5.3.1 Karakterisasi dengan Spektrofotometer UV-Vis

Karakterisasi hasil sintesis nanopartikel perak menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang telah distandarisasi dengan menggunakan larutan aquades sebagai blanko. Larutan nanopartikel perak diambil 1 ml ke dalam kuvet selanjutnya dimasukkan ke dalam *sample holder* spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 300 hingga 800 nm (Colling dkk., 2018).

3.5.4 Uji Aktivitas Antibakteri

3.5.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi adalah proses penting dalam penelitian mikrobIologi untuk membunuh mikroorganisme dan mencegah kontaminasi. Alat-alat yang akan disterilisasi dilakukan pencucian hingga bersih, diikuti dengan pengeringan. Selanjutnya, untuk cawan petri dibungkus dengan kertas sedangkan alat gelas ditutup bagian mulutnya dengan kasa dan kapas kemudian ditutup lagi dengan plastik wrap dan dibungkus dengan kantong plastik bening dan diikat. Proses sterilisasi dilakukan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (*per square inch*). Peralatan yang tidak tahan terhadap suhu tinggi, dilakukan desinfeksi menggunakan alkohol 70% melalui penyemprotan. Alat seperti pinset dan jarum ose disterilkan dengan membakar langsung di atas api bunsen sampai berwarna merah (Linggama dkk., 2019).

3.5.4.2 Pembuatan Media

3.5.4.2.1 Media Mueller Hinton Agar (MHA)

Media MHA dibuat dengan menimbang 38 gram serbuk media dan melarutkannya dalam 1000 mL aquades. Larutan media dipanaskan dengan *hot plate* dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* hingga serbuk larut dan berwarna bening. Media kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121˚C selama 15 menit (HiMedia, 2018).

3.5.4.2.2 Media Mueller Hinton Broth (MHB)

Serbuk MHB dilakukan penimbangan dengan berat 3,25 gram dan dilarutkan dengan aquades sebanyak 250 ml pada erlenmeyer. Pemanasan media menggunakan *hot plate* dan dihomogenkan dengan *magnetic* stirer hingga serbuk

media larut sepenuhnya. Bagian atas erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil. Media disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121˚C (HiMedia, 2019).

3.5.4.3 Pengambilan Sampel Bakteri

Sampel pus (nanah) diambil dari permukaan luka infeksi penderita menggunakan kapas *swab* steril, lalu dimasukkan ke dalam tabung berisi media transport Amies. Dua sampel berkode P1 dan P2 dianalisis. Masing-masing sampel selanjutnya diinokulasikan secara aseptik pada *Nutrient Agar* dan diinkubasi 24 jam pada 37 °C. Dari pertumbuhan koloni yang muncul, satu hingga dua koloni terpilih dipindahkan ke media diferensial *Blood Agar Plate* (BAP). Setelah inkubasi, dibuat preparat mikroskopis dari koloni tersebut, kemudian dilakukan pewarnaan Gram untuk menentukan morfologi bakteri. Kultur bakteri murni diperoleh dengan menggoreskan bakteri pada media padat agar agar sel tumbuh terpisah dan membentuk koloni tunggal. Seluruh prosedur ini dilakukan oleh petugas laboratorium yang berwenang di Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Brawijaya sesuai dengan prosedur kerja yang berlaku.

3.5.4.4 Peremajaan Bakteri Uji

Proses peremajaan bakteri uji dilakukan dengan mengambil kultur bakteri murni sebanyak satu ose, kemudian digoreskan pada permukaan agar MHA untuk *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada *blood agar plate.* Setelah itu, hasil inokulasi bakteri kedua bakteri diinkubasi pada suhu 37ºC selama 24 jam (Dewi dkk., 2019; Hainil dkk., 2022).

3.5.4.5 Pembuatan Larutan Standart

Larutan standar McFarland digunakan untuk mencocokkan tingkat kekeruhan suspensi bakteri sehingga jumlah bakteri dalam suspensi sesuai dengan kisaran yang diperlukan. Larutan McFarland 0,5, yang setara dengan kurang lebih $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (*colony forming units per mililiter*) digunakan sebagai standar. Pembuatan larutan standar McFarland 0,5, dilakukan dengan mereaksikan 0,05 ml larutan barium klorida ($BaCl_2$) 1% dengan 9,95 ml larutan asam sulfat (H_2SO_4) 1%, selanjutnya dihomogenkan dengan vortex. Simpan larutan di tempat yang terhindar dari cahaya matahari langsung (Rosmania & Yanti , 2020).

3.5.4.6 Pembuatan Larutan Kontrol

Kontrol negatif DMSO 5% disiapkan dengan menambahkan 5 ml DMSO ke dalam gelas ukur, kemudian dilarutkan dengan aquades hingga mencapai volume 100 ml . Kontrol positif lefofloxacin 1%, ditimbang 1 gram lefofloxacin dan dilarutkan dalam 100 ml aquades (Hapsari, 2021).

3.5.4.7 Pembuatan Suspsensi Bakteri

Suspensi bakteri dibuat dengan mengambil satu ose biakan bakteri hasil peremajaan dan dimasukkan ke dalam 10 mL NaCl 0,9% steril. Larutan suspensi dihomogenkan menggunakan vortex. Kekeruhan suspensi dibandingkan dengan standar McFarland 10^8 CFU/ml dan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 580 nm dengan transmisi 25%. Hasil pengenceran menunjukkan absorbansi antara 0,08 hingga 0,1 dinyatakan setara dengan larutan McFarland 0,5. Jika kekeruhan belum sesuai, ditambahkan koloni bakteri atau NaCl 0,9% untuk penyesuaian (Nasri dkk., 2023).

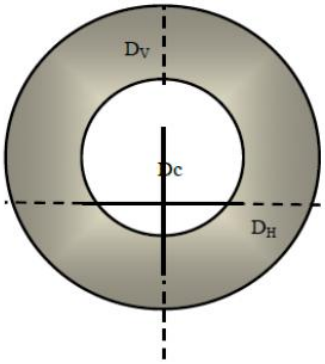
3.5.4.8 Pembuatan Larutan Uji

Pembuatan larutan uji antibakteri dan KHM mengikuti metode modifikasi dari Kusumaningrum (2016) dengan konsentrasi yang disesuaikan. Larutan induk AgNPs dibuat dengan melarutkan 1 mg AgNPs ke dalam 1 mL DMSO 5% seehingga diperoleh konsentrasi 1000 µg/mL. Larutan induk ini kemudian digunakan untuk pembuatan larutan uji antibakteri dengan konsentrasi akhir 25, 50, 75, 100, dan 125 µg/mL. Pada masing-masing tingkat konsentrasi larutan induk 1000 µg/mL dipipet sebanyak 125 µL, 100 µL, 75 µL, 50 µL, dan 25 µL ke dalam botol vial, kemudian ditambahkan pelarut DMSO 5% hingga mencapai volume 1 mL.

3.5.4.9 Uji Diameter Zona Hambat

Metode *spread plate* digunakan untuk pengujian diameter zona hambat. Media padat MHA disiapkan dalam cawan petri. Sebanyak 100 µL suspensi bakteri uji dengan kepadatan standar McFarland 0,5 dituang di atas media dan diratakan secara merata menggunakan *cell sperader*. Cakram kertas berukuran 6 mm direndam dalam sampel uji selama 15 menit untuk memastikan penyerapan yang optimal. Sebagai pembanding, kertas cakram kontrol positif direndam dalam levofloxacin 1% sedangkan cakram kontrol negatif direndam dalam DMSO 5%. Cakram tersebut kemudian ditempatkan di atas MHA yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji, dengan tiga cakram pada setiap cawan sebagai pengulangan. Setelah diberi perlakuan, media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona bening di sekitar cakram menggunakan jangka sorong (Guntur dkk., 2021; Rizki dkk., 2021) dengan

modifikasi. Hasil diameter zona hambat yang dianalisis dapat dilihat pada Tabel 2.1. Pengukuran zona bening dilakukan dengan metode berikut:



Gambar 3.1 Pengukuran diameter zona hambat (Magvirah dkk., 2019)

Rumus diamater zona hambat, sebagai berikut:

$$L = \frac{(Dv - Dc) + (Dh - Dc)}{2}$$

Keterangan:

L = Lebar zona bening

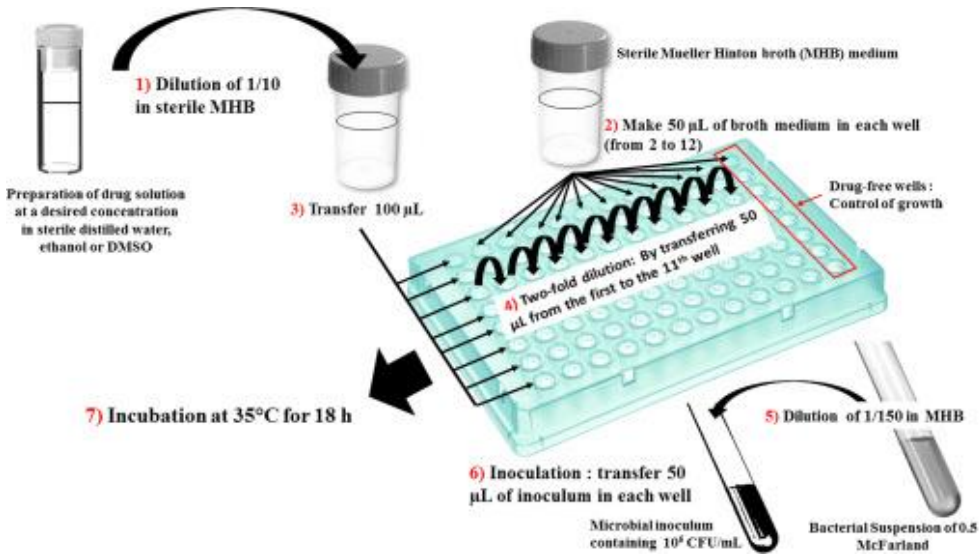
Dv = Diameter vertikal

Dc = Diameter cakram (Magvirah dkk., 2019).

3.5.4.10 Uji KHM dan KBM

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) menggunakan metode mikrodilusi cair dengan pengenceran bertingkat, yakni tingkatan 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,5625; 0,7812 µg/mL. Proses uji KHM dimulai dengan menyiapkan *well plate* 96 steril. Kolom ke-1 pada *well plate* diisi dengan 100 µL (larutan uji 25 µg/mL). Kolom ke-2 hingga kolom ke-6 masing-masing diisi 50 µL media cair

steril. Selanjutnya, 50 µL larutan uji dari kolom pertama diambil dan dipindahkan ke kolom kedua untuk dihomogenkan, dan langkah ini dilanjutkan hingga kolom terakhir. Setelah setiap *well* diisi larutan, kemudian ditambahkan 50 µL kultur bakteri. Kolom *well* pada perlakuan kontrol positif (*growth control*) diisi dengan 50 µL media cair dan 50 µL kultur bakteri, sedangkan kontrol negatif (*sterility control*) diisi dengan 100 µL media cair NB**.** *Well plate* yang diberi perlakuan kemudian ditutup dengan penutup dan dilapisi plastik wrap, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Nilai KHM ditentukan berdasarkan kejernihan larutan pada konsentrasi terendah yang menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri (Lukaraja dkk., 2020; Romadhoni, 2020) dengan modifikasi. Langkah-langkah uji KHM dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2. Teknik mikrodilusi antibakteri menggunakan prinsip CLSI (*Clinical & Laboratory Standards Institute*) (Balouiri *et al.*, 2016)

Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Tahapan ini dilakukan dengan pengambilan 100 µL suspensi dari hasil KHM ke dalam cawan petri yang berisi media agar lalu diratakan dengan *cell spreader*. Inkubasi cawan petri yang diberi perlakuan dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam untuk menentukan konsentrasi terkecil bahan uji yang efektif membunuh bakteri. Penghitungan koloni yang tumbuh dilakukan dengan alat penghitung koloni (*colony counter*), dan hasil KBM ditentukan dari konsentrasi terendah yang tidak terdapat adanya pertumbuhan bakteri atau 0 koloni (Munira & Nasir, 2023).

3.6 Perhitungan Koloni Bakteri

Jumlah koloni bakteri dihitung menggunakan metode *standard plate count* dengan standar 30 hingga 300 koloni. Perhitungan koloni bakteri menurut Soesetyaningsih & Azizah (2020), berikut ini:

a. Cawan yang dipilih memiliki jumlah koloni antara 30 hingga 300.
b. Jika koloni bergabung membentuk kumpulan atau deretan menyerupai garis tebal, maka dihitung sebagai satu koloni bila jumlahnya meragukan.
c. Jika jumlah koloni dalam sampel melebihi 300 CFU/g, maka dikategorikan sebagai *terlalu banyak untuk dihitung* (TBUD) atau *too numerous to count* (TNTC).
d. Penghitungan koloni bakteri dilakukan memakai rumus berikut:

   Koloni/g = Σ koloni per cawan x 1/faktor pengenceran.

3.7 Analisis Data

Data karakterisasi nanopartikel perak (AgNPs) dari ekstrak daun sirih hijau diolah dan divisualisasikan menggunakan perangkat lunak OriginPro 2025. Data

absorbansi terhadap panjang gelombang dari hasil spektroskopi UV-Vis disajikan dalam bentuk kurva. Analisis dilakukan secara deskriptif untuk menggambarkan karakteristik nanopartikel yang terbentuk.

Evaluasi aktivitas antibakteri AgNPs dilakukan melalui tiga parameter, yaitu diameter zona hambat, nilai KHM, dan nilai KBM. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan dengan mengamati zona bening di sekitar cakram kertas pada media biakan, yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Data hasil pengukuran dihitung menggunakan *software* Microsoft Excel 2010 untuk mencari nilai rata-rata tiap konsentrasi dan dianalisis menggunakan perangkat lunak SPSS versi 25. Data dianalisis diawali dengan uji normalitas melalui Shapiro-Wilk karena jumlah sampel < 50, lalu diikuti dengan uji homogenitas melalui *Levene's Test*. Apabila nilai *p-value* > 0,05, data dianggap berdistribusi normal dan homogen. Jika memenuhi kedua syarat tersebut, uji parametrik One-way ANOVA (Analisis Varians) dilakukan untuk mengidentifikasi perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan. Langkah selanjutnya, untuk mengidentifikasi kelompok yang berbeda nyata, dilakukan uji lanjut DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*).

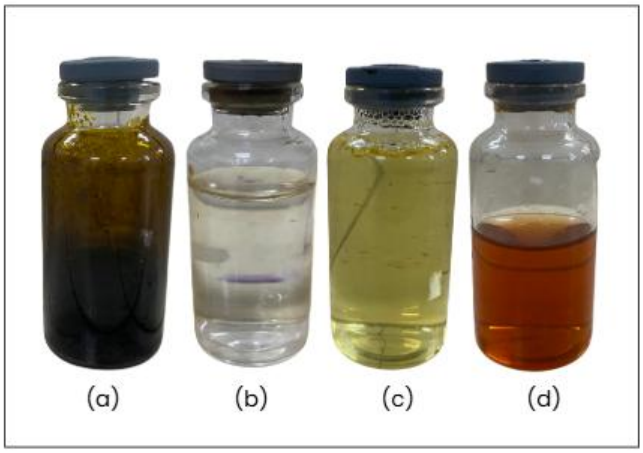
Penetapan nilai KHM dilakukan berdasarkan mengamati konsentrasi AgNPs terendah pada sumur yang menunjukkan media jernih. Menentukan nilai KBM menunjukkan tidak ada pertumbuhan koloni bakteri di media padat. Seluruh data dianalisis secara deskriptif, baik secara kualitatif maupun kuantitatif, dan ditampilkan dalam bentuk tabel, grafik, dan gambar.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakterisasi Nanopartikel Perak Ekstrak Daun Sirih Hijau

4.1.1 Karakterisasi Warna

Karakterisasi awal terhadap sintesis nanopartikel perak (AgNPs) pada penelitian ini dilakukan secara kualitatif melalui pengamatan perubahan warna larutan sebagai indikator terbentuknya nanopartikel. Warna merupakan parameter visual penting yang dapat digunakan sebagai tanda awal proses reduksi ion perak (Ag^{+}) menjadi bentuk logam perak (Ag^{0}) yang terdispersi sebagai nanopartikel. Terjadinya perubahan warna pada larutan nanopartikel perak selama proses berlangsung dapat diamati pada ilustrasi Gambar 4.1.



Gambar 4.1. Perubahan warna larutan selama proses sintesis nanopartikel perak (AgNPs). (a) ekstrak daun sirih hijau (b) larutan perak nitrat (AgNO3) (c) larutan sebelum sintesis (d) larutan AgNPs

Hasil penelitian yang didapat terkait sintesis nanopartikel perak (AgNPs) menunjukkan pada sampel (a) yang berisi ekstrak daun sirih hijau, tampak larutan

berwarna hijau pekat. Larutan ini tidak terdapat ion perak (Ag^+) yang bisa direduksi. Menurut Urnukhsaikhan *et al* (2021) warna hijau pekat pada ekstrak daun sirih berasal dari keberadaan berbagai senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya. Komponen-komponen fitokimia seperti flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, serta senyawa fenolik lainnya memberikan warna khas pada ekstrak tersebut.

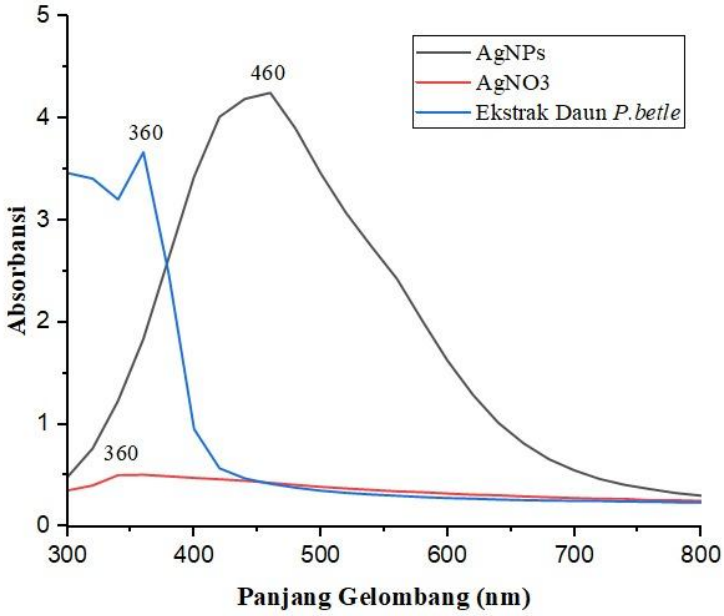
Sampel (b) berisi larutan $AgNO_3$ (perak nitrat) murni yang terlihat berwarna bening. Larutan hanya terdapat ion perak (Ag^+) tanpa keberadaan bahan pereduksi. Hal ini karena tidak adanya senyawa reduktor, larutan ini tetap stabil dan tidak mengalami perubahan warna. Ion Ag^+ tetap berada dalam bentuk terlarut, sehingga larutan tetap jernih. Menurut Raj *et al* (2018) tidak adanya senyawa pereduksi menyebabkan larutan tetap stabil dan tidak mengalami reaksi reduksi, sehingga tidak terbentuk nanopartikel perak (AgNPs) yang umumnya ditandai dengan perubahan warna menjadi kecoklatan. Dalam kondisi ini, ion Ag^+ tetap berada dalam bentuk terlarut dan tidak terkonversi menjadi bentuk logam, sehingga larutan mempertahankan kejernihannya.

Sampel (c) merupakan hasil kombinasi larutan $AgNO_3$ dengan ekstrak daun sirih hijau yang disintesis selama 60 menit dan menunjukkan perubahan warna dari kuning menjadi kecoklatan. Perubahan warna ini menandakan telah terjadinya reaksi reduksi ion Ag^+ menjadi logam perak (Ag^0) oleh senyawa bioaktif dalam ekstrak daun sirih. Menurut Hasanah & Roto (2013) berdasarkan hasil analisis GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*) daun sirih hijau mengandung senyawa turunan fenol, meilputi 4-alilfenil asetat, eugenol, eugenil asetat, kavikol dan alilpirokatekol diasetat memiliki sifat redoks yang bertindak sebagai agen pereduksi. Senyawa fenolik tersebut diketahui memilki gugus fungsi aktif, di

antaranya gugus hidroksil (-OH) dan karbonil (C=O), yang berperan penting dalam proses biosintesis nanopartikel logam (Michalak, 2006). Gugus-gugus ini memiliki kemampuan sebagai donor elektron yang dapat berinteraksi dengan ion logam (Masakke dkk., 2015). Selain bertindak sebagai agen pereduksi, gugus fenolik ini juga berperan sebagai agen penstabil (*capping agent*) yang menyelimuti permukaan nanopartikel yang terbentuk, sehingga mencegah terjadinya aglomerasi (Awwad dkk., 2013).

4.1.2 Analisis Spektrofotometer Uv-Vis

Terbentuknya nanopartikel perak tidak hanya dapat diamati dari perubahan warna larutan yang berubah dari kuning menjadi kecoklatan (Mani *et al* ., 2021). Akan tetapi, salah satu indikator dalam pengamatan pembentukan nanopartikel perak adalah adanya spektrum puncak absorbansi maksimum yang spesifik pada analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Maarebia *et al*., 2019). Pengujian spektrofotometer UV-Vis dilakukan untuk mengonfirmasi keberhasilan sintesis nanopartikel perak (AgNPs) dengan pendekatan kuantitatif berdasarkan nilai serapan maksimum dari setiap sampel. Uji ini dilakukan pada panjang gelombang 300–800 nm dengan aquadest sebagai blanko. Sampel yang diuji meliputi larutan prekursor $AgNO_3$, ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle*), dan hasil biosintesis AgNPs menggunakan ekstrak tersebut. Hasil analisis AgNPs ditampilkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2. Spektrum UV-Vis AgNPs

Hasil spektrum larutan $AgNO_3$ menunjukkan puncak serapan yang sangat rendah dengan puncak absorbansi tertinggi sebesar 0,5 dan panjang gelombang 360 nm. Nilai serapan yang rendah ini menandakan bahwa larutan $AgNO_3$ masih dalam bentuk ionik (Ag^+) dan belum mengalami proses reduksi menjadi logam perak (Ag^0). Hal ini menunjukkan bahwa $AgNO_3$ belum membentuk nanopartikel dan tidak menampilkan fenomena *surface plasmon resonance* (SPR) yang khas pada nanopartikel logam.

Ekstrak daun sirih hijau menunjukkan puncak spektrum serapan berada pada panjang gelombang sekitar 360 nm dengan nilai absorbansi sekitar 3,6. Puncak serapan ini mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa dalam ekstrak tersebut masih berada dalam bentuk molekul biasa, tanpa mengalami perubahan menjadi partikel berukuran nano (Masykuroh & Puspasari, 2020). Ketidakadaan puncak

absorbansi khas nanopartikel pada spektrum ini menunjukkan bahwa proses sintesis nanopartikel belum terjadi.

Sampel AgNPs hasil biosintesis menunjukkan puncak absorbansi pada panjang gelombang 460 nm dengan nilai absorbansi tertinggi mencapai sekitar 4,2. Puncak ini berada dalam rentang panjang gelombang 400–500 nm dan termasuk dalam karakteristik khas dari *Surface Plasmon Resonance* (SPR) pada nanopartikel perak (Wahab *et al*., 2018). Kenaikan nilai absorbansi menunjukkan peningkatan jumlah nanopartikel yang terbentuk (Maarebia *et al*., 2019). Nilai absorbansi sebesar 4,2 pada panjang gelombang 460 nm menunjukkan keberhasilan biosintesis AgNPs, yang ditandai dengan terbentuknya partikel perak yang stabil dan terdispersi baik dalam larutan.

Fenomena SPR merupakan osilasi kolektif elektron bebas pada permukaan nanopartikel logam akibat interaksi dengan medan elektromagnetik dari cahaya yang datang (Purnomo, 2017). Cahaya yang mengenai permukaan nanopartikel perak akan memicu eksitasi elektron-elektron pada pita konduksi, sehingga menghasilkan getaran resonansi kolektif. Getaran ini menimbulkan pita absorbansi yang kuat pada panjang gelombang tertentu dan dalam penelitian ini, teramati pada 460 nm (Orabek *et al*., 2015). Fenomena *Surface Plasmon Resonance* (SPR) ini juga berperan dalam menentukan warna khas larutan AgNPs, yang muncul akibat interaksi cahaya dengan partikel pada skala nano melalui eksitasi elektron (Erika, 2021).

Surface Plasmon Resonance ini tidak hanya menunjukkan keberhasilan sintesis, tetapi juga memberikan dampak fungsional terhadap aktivitas nanopartikel. Energi cahaya yang terserap melalui SPR menyebabkan terjadinya

pemisahan muatan, yakni terbentuknya *hole* positif dan elektron bebas. Elektron bebas tersebut dapat bereaksi dengan molekul oksigen atau air di lingkungan sekitar membentuk radikal bebas, seperti radikal superoksida dan radikal hidroksil. Kedua jenis radikal ini memiliki daya oksidatif yang tinggi dan mampu merusak struktur molekul polutan organik, sehingga mengubahnya menjadi senyawa yang lebih sederhana dan tidak beracun bagi lingkungan (Tang & Chen, 2004).

4.2 Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Perak Ekstrak Daun Sirih Hijau

Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengevaluasi efektivitas nanopartikel perak (AgNPs) hasil sintesis dengan ekstrak daun sirih hijau dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (bakteri Gram-positif) dan *Pseudomonas aeruginosa* (bakteri Gram-negatif). Penentuan kategori daya hambat dalam penelitian ini merujuk pada standar yang ditetapkan oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), dengan mengacu pada klasifikasi zona hambat menurut Davis dan Stout. Kriteria klasifikasi tersebut yaitu diameter zona hambat ≤ 5 mm dikategorikan sebagai lemah, 5–10 mm sebagai sedang, 11–20 mm sebagai kuat, dan ≥ 21 mm sebagai sangat kuat. Pengukuran aktivitas antibakteri berdasarkan diameter zona hambat ditunjukkan pada Tabel 4.1 sebagai berikut:

Tabel 4.1 Hasil diameter zona hambat AgNPs ekstrak daun sirih hijau (*P. betle)* terhadap bakteri uji

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm) ± SD			
	S. aureus		***P.aeruginosa***	
	Rata-rata	**Kategori**	**Rata-rata**	**Kategori**
AgNPs 25 µg/ml	9,4 ± 0,84	Sedang	11,17 ± 0,79	Kuat
AgNPs 50 µg/ml	10,2 ± 0,92	Kuat	12,08 ± 0,81	Kuat
AgNPs 75 µg/ml	10,95 ±1,04	Kuat	12,81 ± 0,60	Kuat
AgNPs 100 µg/ml	11,71 ±0,97	Kuat	13,45 ± 0,61	Kuat
AgNPs 125 µg/ml	12,6 ± 0,92	Kuat	14,20 ± 0,70	Kuat
Kontrol (Levofloxacin 1%)	35,83 ± 2,13	Kuat	40,35 ± 4,38	Kuat
Kontrol (DMSO 5%)	0,00	Tidak ada	0,00	Tidak ada

Hasil pada Tabel 4.1 menunjukkan aktivitas antibakteri nanopartikel perak (AgNPs) yang disintesis menggunakan ekstrak daun sirih hijau terhadap dua jenis bakteri uji, yaitu *Staphylococcus aureus* (Gram-positif) dan *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negatif). Uji dilakukan dengan tujuh perlakuan, meliputi enam konsentrasi AgNPs (25, 50, 75, 100, dan 125 µg/mL) dan kontrol positif (levofloxacin 1%) serta kontrol negatif (DMSO 5%). Zona hambat terbentuk di sekitar kertas cakram pada semua perlakuan AgNPs dan kontrol positif, menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Sebaliknya, kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat.

Perlakuan pada konsentrasi 25 µg/mL menghasilkan zona hambat terhadap *S. aureus* (9,4 ± 0,84 mm) tergolong sedang, sedangkan terhadap *P. aeruginosa* (11,17 ± 0,79 mm) termasuk kuat. Peningkatan konsentrasi menjadi 50 µg/mL menghasilkan diameter zona hambat 10,2 ± 0,92 mm (*S. aureus*) dan 12,08 ± 0,81 mm (*P. aeruginosa*), keduanya masuk kategori kuat. Konsentrasi 75 µg/mL menunjukkan peningkatan efektivitas, dengan zona hambat masing-masing 10,95 ±

1,04 mm dan 12,81 ± 0,60 mm. Pada konsentrasi 100 µg/mL, aktivitas antibakteri meningkat lebih lanjut, menghasilkan zona hambat sebesar 11,71 ± 0,97 mm terhadap *S. aureus* dan 13,45 ± 0,61 mm terhadap *P. aeruginosa*, keduanya termasuk kategori kuat. Konsentrasi tertinggi, yaitu 125 µg/mL, menunjukkan efektivitas paling tinggi dengan zona hambat masing-masing 12,6 ± 0,92 mm dan 14,20 ± 0,70 mm, keduanya dikategorikan sangat kuat.

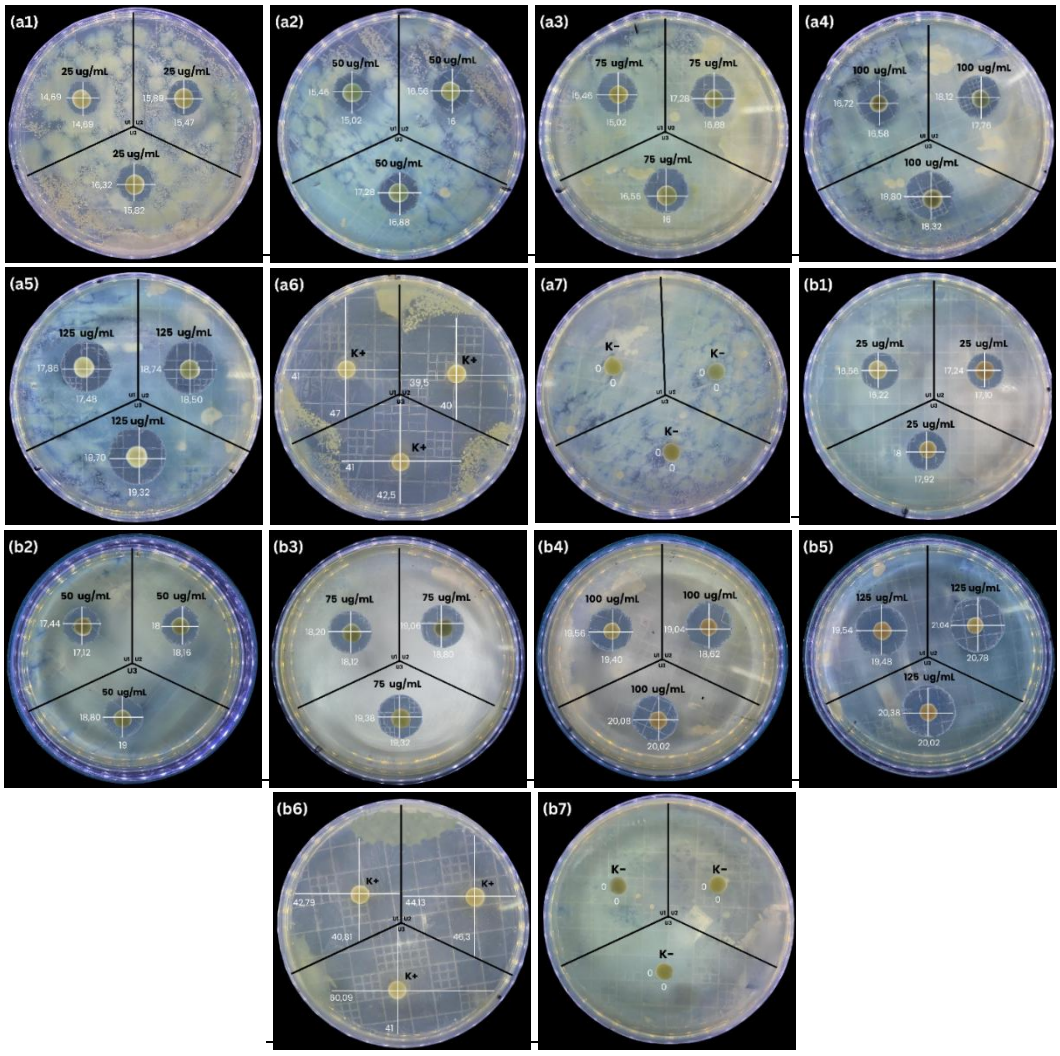
Hasil penelitian lain oleh Tesfaye *et al* (2023), AgNPs yang disintesis dari daun *Vernonia amygdalina* pada konsentrasi 25 µg/mL membentuk zona hambat sebesar 9 mm terhadap *S. aureus* dan 10 mm terhadap *P. aeruginosa*, sedangkan pada konsentrasi 75 µg/mL menghasilkan zona hambat sebesar 14 mm (*S. aureus*) dan 14,5 mm (*P. aeruginosa*). Meskipun efektivitas antibakteri pada konsentrasi 75 µg/mL dalam penelitian Tesfaye *et al* (2023) tampak lebih tinggi, pada konsentrasi 25 µg/mL nilai zona hambat terhadap *P. aeruginosa* dalam penelitian ini lebih besar. Perbedaan efektivitas ini dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti jenis reduktor, metode sintesis, ukuran dan bentuk nanopartikel.

Selain itu, hasil karakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis mengindikasikan bahwa puncak serapan nanopartikel perak dalam penelitian Tesfaye *et al* (2023) berada pada panjang gelombang 440 nm, sedangkan dalam penelitian ini terdeteksi pada 460 nm. Pergeseran puncak ini dapat mengindikasikan bahwa partikel yang dihasilkan dalam penelitian ini memiliki ukuran yang sedikit lebih besar atau bentuk yang berbeda, yang secara tidak langsung dapat mempengaruhi stabilitas dan efektivitas antibakterinya (Fahmi *et al*., 2024). Nanopartikel berukuran kecil menghasilkan rasio luas permukaan terhadap volume yang tinggi, sehingga mampu berinteraksi lebih optimal dengan sel bakteri.

Sebaliknya, peningkatan ukuran partikel dapat menurunkan efektivitas interaksi dan menghambat mekanisme antibakteri yang efektif (Xin *et al*., 2020).

Kontrol positif (levofloxacin 1%) pada penelitian ini digunakan sebagai pembanding dan menunjukkan aktivitas antibakteri sangat kuat dengan zona hambat sebesar 35,83 ± 2,13 mm terhadap *S. aureus* dan 40,35 ± 4,38 mm terhadap *P. aeruginosa*. Menurut Ekfriani dkk (2025) levofloxacin memilliki pektrum luas, yang efektif terhadap berbagai jenis bakteri, baik Gram-positif, Gram-negatif, maupun bakteri atipikal. Sementara itu, kontrol negatif (DMSO 5%) tidak menunjukkan aktivitas antibakteri. Hal ini sejalan dengan penelitian Putri (2022) bahwa DMSO 5% tidak menunjukkan efek hambat terhadap bakteri, sehingga aktivitas antibakteri yang teramati dapat dikaitkan sepenuhnya dengan senyawa uji, bukan dengan pelarut yang digunakan. Selain itu, hasil penelitian ini menegaskan bahwa AgNPs memiliki potensi antibakteri yang meningkat seiring kenaikan konsentrasi, meskipun masih berada di bawah efektivitas antibiotik standar.

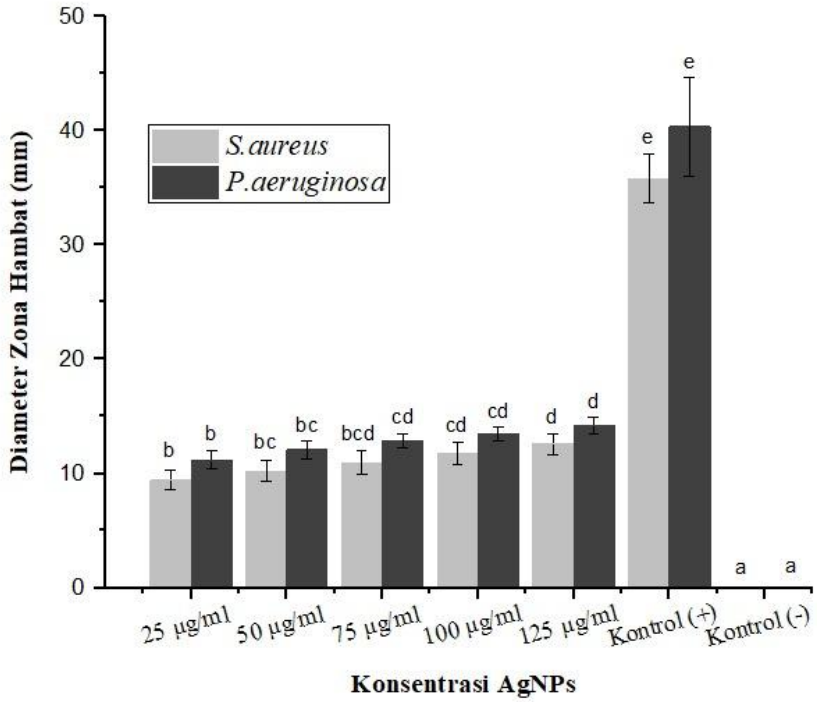
Antibiotik komersial umumnya lebih efektif karena dirancang spesifik terhadap target bakteri tertentu. Namun, efektivitasnya dapat menurun akibat mutasi pada target tersebut. Sebaliknya, nanopartikel seperti AgNPs bekerja secara non-spesifik, sehingga efektivitasnya cenderung lebih rendah, namun tetap stabil terhadap berbagai jenis bakteri (Wang *et al*., 2017). Dalam penelitian ini, AgNPs menunjukkan peningkatan aktivitas antibakteri seiring kenaikan konsentrasi terhadap *S. aureus* dan *P. aeruginosa*, menandakan potensi sebagai alternatif antibakteri di tengah isu resistensi antibiotik. Zona hambat yang terbentuk karena perlakuan larutan AgNPs serta kontrol terhadap dua bakteri uji divisualisasikan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Diameter zona hambat. (a1) AgNPs 25 µg/mL *S.aureus* (a2) AgNPs 50 µg/mL *S.aureus* (a3) AgNPs 75 µg/mL *S.aureus* (a4) AgNPs 100 µg/mL *S.aureus* (a5) AgNPs 125 µg/mL *S.aureus* (a6) Kontrol positif *S.aureus* (a7) Kontrol negatif *S.aureus* (b1) AgNPs 25 µg/mL *P.aeruginosa* (b2) AgNPs 50 µg/mL *P.aeruginosa* (b3) AgNPs 75 µg/mL *P.aeruginosa* (b4) AgNPs 100 µg/mL *P.aeruginosa* (b5) AgNPs 125 µg/mL *P.aeruginosa* (b6) Kontrol positif *P.aeruginosa* (b7) Kontrol negatif *P.aeruginosa*

Diameter zona hambat yang dihasilkan oleh berbagai konsentrasi AgNPs terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* juga dianalisis secara statistik dengan menggunakan SPSS versi 25. Tahapan awal meliputi uji asumsi parametrik, yakni uji normalitas dengan Shapiro-wilk dan uji homogenitas varians menggunakan *Levene's test*. Hasil kedua uji menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan homogen, ditunjukkan dengan nilai signifikansi ($p > 0,05$), artinya data memenuhi syarat untuk dilanjutkan ke uji analisis varians satu arah (One-Way ANOVA) (Lampiran 4.3).

Uji ANOVA digunakan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rata-rata diameter zona hambat antar kelompok perlakuan dengan konsentrasi AgNPs yang berbeda terhadap dua jenis bakteri uji, yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil uji menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dalam rata-rata diameter zona hambat antar perlakuan konsentrasi AgNPs terhadap kedua spesies bakteri uji. Hal ini mengindikasikan bahwa variasi konsentrasi AgNPs secara signifikan mempengaruhi efektivitas antibakteri yang dihasilkan. Apabila uji ANOVA menunjukkan adanya perbedaan, maka dilakukan uji lanjut DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) untuk mengidentifikasi perbedaan signifikan antar perlakuan (Lampiran 4.4). Hasil uji lanjut DMRT terhadap pengaruh AgNPs pada bakteri uji dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Perbandingan efektifvitas antibakteri AgNPs terhadap bakteri uji berdasarkan diameter zona hambat. Diagram batang yang disertai notasi huruf berbeda dinyatakan berbeda nyata berdasarkan uji DMRT 5%

Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* memberikan hasil bahwa perlakuan dengan levofloxacin 1% (kontrol positif) menghasilkan diameter zona hambat terbesar, yang berbeda nyata dibandingkan dengan semua perlakuan konsentrasi nanopartikel perak (AgNPs) dan DMSO 5% (kontrol negatif). Pada konsentrasi AgNPs 125 µg/mL, diameter zona hambat yang dihasilkan lebih besar, namun tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 75, 100, dan 125 µg/mL. Sebaliknya, berbeda nyata antara konsentrasi 125 µg/mL dengan konsentrasi 25 µg/mL dan 50 µg/mL.

Hasil penelitian ini mengindikasikan adanya hubungan antara peningkatan konsentrasi nanopartikel perak (AgNPs) dengan perluasan diameter zona hambat

terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Pola ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri AgNPs meningkat secara proporsional terhadap peningkatan konsentrasi. Menurut Sangdee *et al* (2021) bahwa efek antibakteri nanopartikel perak (AgNPs) dipengaruhi oleh konsentrasi, di mana peningkatan konsentrasi AgNPs akan memperkuat daya hambat terhadap bakteri.

Aktivitas antibakteri nanopartikel perak (AgNPs) meningkat seiring bertambahnya konsentrasi, karena lebih banyak ion Ag^+ yang dilepaskan (More *et al*., 2023). Ion perak (Ag^+) memiliki afinitas yang tinggi terhadap gugus bermuatan negatif, seperti fosfat dan belerang pada struktur sel bakteri, sehingga merusak membran, meningkatkan permeabilitas, dan menyebabkan kebocoran isi sel (Wahab *et al.,* 2021). Selain itu, ion Ag^+ juga dapat masuk ke dalam sel bakteri dan menonaktifkan enzim-enzim penting dalam sistem respirasi, yang berujung pada penurunan produksi energi (ATP). Proses ini disertai dengan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) yang menyebabkan stres oksidatif, kerusakan DNA, dan gangguan replikasi serta sintesis protein. Akumulasi efek toksik ini akhirnya menyebabkan nekrosis sel atau kematian sel (Liu *et al*., 2021; Shaikh *et al*., 2019).

Perbedaan diameter zona hambat dalam penelitian ini dipengaruhi oleh perbedaan struktur dinding sel bakteri Gram-positif (*S.aureus*) dan Gram-negatif (*P.aeruginosa*). Hasil dari AgNPs terhadap *S.aureus* dapat menghambat bakteri Gram-negatif lebih besar daripada Gram positif. Menurut Meikle *et al* (2020) bakteri Gram-negatif memiliki dinding sel yang terdiri dari lapisan lipopolisakarida (LPS) tebal dan peptidoglikan tipis, yang memungkinkan nanopartikel perak (AgNPs) untuk lebih mudah menembus dan berinteraksi dengan bagian dalam sel, sehingga menghasilkan efek antibakteri yang lebih luas diameternya dibandingkan

Gram-positif. Sebaliknya, bakteri Gram-positif memiliki lapisan peptidoglikan tebal yang dapat menghalangi penetrasi AgNPs, sehingga efektivitasnya lebih rendah (Noronha *et al*., 2017).

4.3 Aktivitas Hambat dan Bunuh Minimum Nanopartikel Perak Ekstrak Daun Sirih Hijau (*P. betle*)

Analisis terhadap Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari nanopartikel perak (AgNPs) yang disintesis dengan ekstrak daun *P. betle* dilakukan dengan metode mikrodilusi cair dan hasilnya ditampilkan pada Tabel 4.2. Penentuan nilai KHM merujuk pada standar yang mengacu pada pedoman dari *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), di mana parameter penilaian dilakukan berdasarkan tingkat kejernihan media kultur setelah inkubasi dengan berbagai konsentrasi agen antibakteri. Larutan yang jernih ditandai dengan simbol (–) yang mengindikasikan tidak adanya pertumbuhan bakteri, sehingga menunjukkan efektivitas senyawa antibakteri pada konsentrasi tersebut. Sebaliknya, larutan yang keruh diberikan simbol (+), yang menunjukkan adanya aktivitas pertumbuhan bakteri.

Tabel 4.2. Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Bakteri Uji	Konsentrasi AgNPs (µg/ml)							
	25	12,5	6,25	3,125	1,562	0,781	K+	K-
S. aureus	-	-	-	+	+	+	+	-
P. aeruginosa	-	-	-	-	-	+	+	-

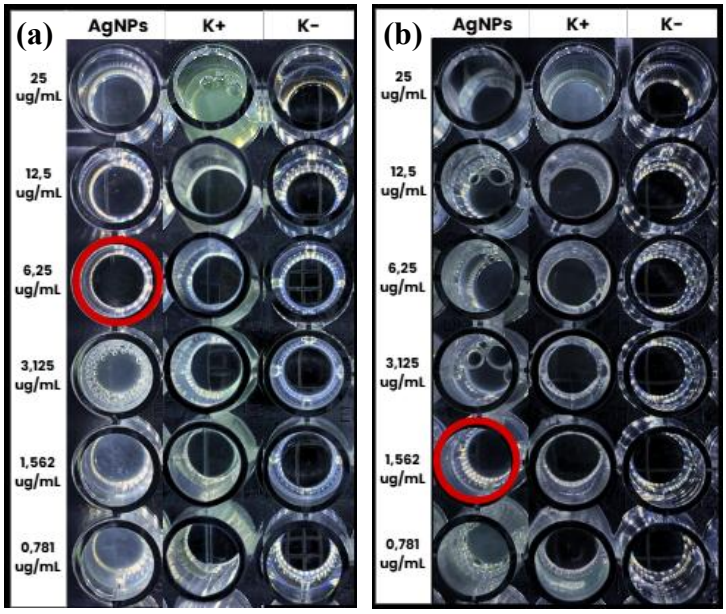
Keterangan: Keruh (+) , jernih (-), (positif KHM), K+ (media NB dan suspensi bakteri), K- (media NB)

Berdasarkan hasil yang disajikan dalam Tabel 4.2 teridentifikasi perbedaan tingkat kekeruhan antar kelompok perlakuan apabila dibandingkan dengan kontrol positif (*growth control*) dan kontrol negatif (*sterility control*). Pada kontrol positif, media berubah menjadi keruh, yang mengindikasikan bahwa masih terdapat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada kontrol negatif media tetap jernih, yang bererati tidak ada aktivitas pertumbuhan bakteri. Kedua kontrol ini berperan sebagai pembanding dalam menentukan efektivitas antibakteri KHM berdasarkan tingkat kekeruhan larutan uji.

Pengamatan visual terhadap kejernihan larutan pada masing-masing *well* menunjukkan bahwa perlakuan AgNPs terhadap *Staphylococcus aureus* sampel berwarna keruh (+) pada konsentrasi 3,125 µg/mL hingga 0,781 µg/mL, yang mengindikasikan adanya pertumbuhan bakteri. Sebaliknya, media jernih (-) mulai teramati pada konsentrasi ≥ 6,25 µg/mL, menunjukkan tidak ditemukan aktivitas pertumbuhan. Berdasarkan hasil tersebut, konsentrasi 6,25 µg/mL ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap *S. aureus*, karena merupakan konsentrasi terendah yang secara efektif menghambat pertumbuhan bakteri.

Uji AgNPs terhadap *P. aeruginosa* menunjukkan bahwa media tetap jernih pada perlakuan AgNPs dengan konsentrasi 25 hingga 1,562 µg/mL, yang mengindikasikan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Namun, pada konsentrasi 0,781 µg/mL, media mulai menunjukkan kekeruhan, menandakan pertumbuhan bakteri masih terjadi. Hasil tersebut menunjukkan konsentrasi 1,562 µg/mL ditetapkan sebagai nilai KHM terhadap *P. aeruginosa*, karena merupakan

konsentrasi terendah yang secara efektif menghambat pertumbuhan. Hasil interpretasi KHM ini dapat dilihat lebih jelas pada Gambar 4.4.



Gambar 4.5. Nilai KHM ditunjukkan oleh lingkaran merah pada *microplate* 96 *well* (a) *S.aureus* (b) *P.aeruginosa*

Kekeruhan pada media uji digunakan untuk menandakan adanya pertumbuhan bakteri, di mana peningkatan jumlah bakteri akan mengakibatkan peningkatan kekeruhan pada media tersebut. Menurut Yuka dkk (2021) perkembangan bakteri dapat diamati melalui perubahan tingkat kekeruhan pada media. Semakin banyak bakteri yang berkembang, semakin besar pula kekeruhan yang terjadi. Sebaliknya, jika sampel tetap jernih setelah inkubasi, hal ini menunjukkan bahwa bakteri terhambat perkembangannya, yang berarti konsentrasi terendah yang menghasilkan kejernihan ini menjadi penanda dari nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian terdahulu, seperti yang dilakukan oleh Sheikoleslami *et al* (2016) menemukan bahwa nilai KHM AgNPs terhadap *S.aureus* yaitu pada konsentrasi 6,25 µg/mL. Sementara itu, penelitian oleh Singh *et al* (2014) bahwa nilai KHM terhadap *P. aeruginosa* berkisar antara 6,25–12,5 µg/mL. Namun, dalam penelitian ini, nilai KHM terhadap P. aeruginosa ditemukan pada konsentrasi 1,562 µg/mL, yang lebih rendah dibandingkan dengan penelitian sebelumnya. Hal ini menunjukkan bahwa AgNPs yang digunakan memiliki aktivitas antibakteri yang lebih efektif terhadap bakteri Gram-negatif pada konsentrasi yang lebih rendah.

Nilai KHM dalam penelitian ini dikonfirmasi melalui metode *Total Plate Count* (TPC) pada media agar padat. Metode TPC dapat memberikan hasil yang lebih objektif dan kuantitatif. Penentuan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) didasarkan pada konsentrasi terendah larutan uji yang tidak menunjukkan adanya koloni yang tumbuh pada media (Romadhoni, 2020). Hasil KBM disajikan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Bakteri	Konsentrasi AgNPs (µg/ml)							
	25	**12,5**	**6,25**	**3,125**	**1,562**	**0,781**	**K+**	**K-**
S. aureus	0	0	$1{,}86\times10^{4}$	$7{,}16\times10^{5}$	TBUD	TBUD	TBUD	0
P. aeruginosa	0	0	0	$1{,}1\times10^{5}$	$1{,}36\times10^{6}$	$5{,}6\times10^{7}$	TBUD	0

Keterangan : : nilai KBM
: nilai KHM
TBUD : Terlalu banyak untuk dihitung

Berdasarkan hasil uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang disajikan pada Tabel 4.3, diketahui bahwa nanopartikel perak (AgNPs) menunjukkan kemampuan bakterisidal terhadap dua jenis bakteri uji, yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, namun dengan konsentrasi yang berbeda. Nilai KBM ditentukan berdasarkan konsentrasi terendah dari AgNPs yang mampu membunuh pertumbuhan bakteri secara total atau ditandai dengan tidak adanya koloni pada media uji. Pada *S.aureus*, nilai KBM dari senyawa uji tercapai pada konsentrasi 12,5 µg/ml, hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya koloni yang tumbuh pada media uji (0 CFU/ml). Selain itu, pada konsentrasi yang lebih tinggi, yaitu 25 µg/ml, juga tidak terdeteksi pertumbuhan koloni, mengindikasikan bahwa efektivitas antibakteri tetap terjaga pada konsentrasi di atas KBM.

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, diperoleh bahwa tidak terjadi pertumbuhan koloni bakteri (0 CFU/ml) pada konsentrasi 25 µg/ml, 12,5 µg/ml, dan 6,25 µg/ml. Ketiga konsentrasi tersebut menunjukkan kemampuan bakterisidal dengan membunuh pertumbuhan bakteri secara menyeluruh. Namun, sesuai dengan prinsip penetapan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), yaitu konsentrasi terendah yang mampu membunuh pertumbuhan bakteri secara total, maka konsentrasi 6,25 µg/ml ditetapkan sebagai nilai KBM terhadap *P. aeruginosa*.

Pembanding hasil penelitian ini mengggunakan Kontrol positif yang berfungsi sebagai indikator pertumbuhan bakteri dan menunjukkan hasil Terlalu Banyak untuk Dihitung (TBUD) pada semua kelompok bakteri, ditandai dengan jumlah koloni melebihi batas maksimal perhitungan standar (≥ 300 koloni per cawan). Hal ini selaras dengan hasil pengamatan visual pada sumur uji yang

menunjukkan sampel menjadi keruh dan digunakan sebagai indikator tingginya aktivitas pertumbuhan bakteri. Sebaliknya, kontrol negatif yang digunakan untuk mengevaluasi kemungkinan kontaminasi pada media tidak menunjukkan adanya pertumbuhan koloni (0 CFU/ml), yang diperkuat oleh kondisi visual media yang tetap jernih. Hasil uji KBM direpresentasikan dalam bentuk gambar pada Lampiran 6.2.

Hasil penelitian oleh Parvekar *et al* (2020), menunjukkan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari nanopartikel perak (AgNPs) terhadap *Staphylococcus aureus* ditemukan sebesar 6,25 µg/ml. Sementara itu, penelitian yang dilakukan oleh Liao *et al* (2020) melaporkan bahwa nilai KBM dari AgNPs terhadap *Pseudomonas aeruginosa* berada dalam kisaran 2,813–5,625 µg/mL. Berdasarkan hasil penelitian ini, nilai KBM terhadap *S.aureus* adalah sebesar 12,5 µg/mL, dan terhadap *P.aeruginosa* sebesar 6,25 µg/mL. Dengan demikian, nilai KBM terhadap *S. aureus* sebesar 12,5 µg/mL menunjukkan efektivitas antibakteri yang relatif lebih rendah dibandingkan penelitian sebelumnya. Sedangkan nilai KBM terhadap *P. aeruginosa* sebesar 6,25 µg/mL juga lebih tinggi dibandingkan rentang yang dilaporkan oleh Liao *et al* (2020)

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) mengindikasikan konsentrasi terendah dari suatu zat antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri, yaitu saat bakteri tidak terlihat berkembang, tetapi belum tentu mati. Sebaliknya, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) merupakan konsentrasi terendah yang benar-benar membunuh setidaknya 99,9% dari jumlah awal bakteri (setara dengan penurunan jumlah koloni sebesar ≥ 3-log CFU/ml). Suatu zat antibakteri dikatakan

bersifat bakterisidal jika nilai KBM-nya tidak lebih dari empat kali lipat dari nilai KHM-nya (Pankey & Sabath, 2004).

4.4 Relevansi Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, ekstrak daun sirih hijau (*P. betle*) menunjukkan potensi sebagai reduktor alami dalam sintesis nanopartikel perak (AgNPs). Hal ini ditujukkan dengan perubahan warna sampel dari kuning menjadi oranye kecoklatan yang mengindikasikan terbentuknya AgNPs. Peran ekstrak ini tidak hanya terbatas sebagai bioreduktan alami, tetapi juga memberikan kontribusi terhadap sifat antibakteri dari AgNPs yang dihasilkan. Kandungan senyawa bioaktif seperti 4-alilfenil asetat, eugenol, eugenil asetat, kavikol dan alilpirokatekol diasetat berperan dalam proses reduksi ion perak (Ag^{+}) menjadi bentuk nanopartikel serta meningkatkan efektivitasnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Hasanah & Roto, 2013). Pemanfaatan tanaman dalam penelitian ini juga sejalan dengan nilai-nilai yang terkandung dalam Al-Qur'an, seperti yang tercantum dalam QS. As-Syu'ara ayat 7, sebagaimana berikut:

اَوَلَمْ يَرَوْا اِلَى الْاَرْضِ كَمْ اَنْۢبَتْنَا فِيْهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيْمٍ ۝٧

Artinya: *Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami telah menumbuhkan di sana segala jenis (tanaman) yang tumbuh baik?*

Tafsir al-Misbah, Quraish Shihab menafsirkan kata *zauj* dalam ayat ini sebagai pasangan, yang tidak terbatas pada pasangan manusia, melainkan juga mencakup pasangan pada tumbuh-tumbuhan. Konsep pasangan tidak mutlak bagi manusia, karena tumbuh-tumbuhan pun memiliki pasangan dalam konteks biologis maupun fungsional. Meskipun manusia dan tumbuhan sama-sama mengalami proses pertumbuhan, keduanya memiliki karakteristik yang berbeda. Tumbuhan

tumbuh dari bumi, bermula dari benih yang ditanam di tanah, sedangkan manusia tumbuh dan berkembang dari rahim seorang ibu.

Lafal *karīm* dijelaskan sebagai kata sifat yang menggambarkan kebaikan atau kemuliaan pada objek yang disifatinya. Dalam konteks tumbuh-tumbuhan, istilah ini merujuk pada tanaman yang baik, subur, dan memberikan manfaat. Ayat tersebut juga memberikan pesan penting bahwa alam semesta ini diciptakan dengan penuh hikmah dan kebermanfaatan (Shihab, 2009). Salah satu contoh konkret dari keberkahan alam ini adalah memperoleh manfaat dari sirih hijau (*P. betle*).

Konsep mengenai nanopartikel pada penelitian ini digunakan sebagai antibakteri dan terbukti menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji, yaitu *S.aureus* dan *P.aeruginosa*. Meskipun ukuran nanopartikel kecil, namun, memiliki luas permukaan yang sangat besar dan memungkinkan interaksi lebih efektif dengan sel bakteri serta memberikan efek antibakteri (Liu *et al*., 2021). Potensi besar yang terkandung dalam nanopartikel ini tersirat dalam firman Allah SWT yang terdapat dalam QS. Saba' ayat 3, sebagaiaman berikut:

وَقَالَ الَّذِيْنَ كَفَرُوْا لَا تَأْتِيْنَا السَّاعَةُ ۗقُلْ بَلٰى وَرَبِّيْ لَتَأْتِيَنَّكُمْۙ عٰلِمِ الْغَيْبِۚ لَا يَعْزُبُ عَنْهُ مِثْقَالُ ذَرَّةٍ فِى السَّمٰوٰتِ وَلَا فِى الْاَرْضِ وَلَآ اَصْغَرُ مِنْ ذٰلِكَ وَلَآ اَكْبَرُ اِلَّا فِيْ كِتٰبٍ مُّبِيْنٍۙ ۝٣

Artinya: *Orang-orang yang kufur berkata, "Hari Kiamat itu tidak akan datang kepada kami." Katakanlah (Nabi Muhammad), "Pasti datang. Demi Tuhanku yang mengetahui yang gaib, kiamat itu pasti mendatangi kamu. Tidak ada yang tersembunyi bagi-Nya sekalipun seberat atom, baik yang di langit maupun yang di bumi, yang lebih kecil daripada itu atau yang lebih besar, kecuali semuanya ada dalam kitab yang jelas (Lauh Mahfuz*)."

Seiring dengan kemajuan teknologi dan ilmu pengetahuan, konsep *dzarrah* yang dalam Al-Qur'an merujuk pada sesuatu yang sangat kecil kini dapat dipahami dalam konteks nanoteknologi. Hamka dalam *Tafsir al-Azhar* menjelaskan bahwa

kata tersebut menggambarkan objek mikroskopis, yang dalam ilmu modern setara dengan atom, partikel terkecil penyusun materi. Pada masa lalu, masyarakat menggambarkan *dzarrah* sebagai benda sekecil kepala semut, debu yang beterbangan, atau telur semut. Namun, seiring perkembangan ilmu, pemahaman tersebut telah berkembang dan kini dihubungkan dengan atom, serta nanopartikel yang berukuran serupa, yakni dalam skala nanometer (nm) (Maulahibati dkk., 2023).

Pemanfaatan nanopartikel mencerminkan betapa telitinya ciptaan Allah SWT, di mana setiap unsur yang terlihat kecil, seperti nanopartikel, memiliki potensi besar untuk berkontribusi dalam berbagai bidang ilmu dan teknologi. Hal ini tidak hanya mengundang kekaguman terhadap ciptaan Allah, tetapi juga menegaskan bagaimana pengetahuan manusia seiring waktu semakin mendekati pemahaman terhadap kebesaran-Nya. Salah satunya adalah penggunaan perak dalam bidang medis, yang sejak zaman dahulu telah dikenal manfaatnya, baik dalam pengobatan luka maupun sebagai agen antibakteri.

Penggunaan perak sebagai obat, didasari dengan memperhatikan pendapat ulama yang tertuang dalam Fatwa MUI No. 47 Tahun 2018, yaitu pendapat Ibnu Hajar al-Haitami dalam Kitab *Tuhfatul Muhtaj* Jilid 1 hal. 123,sebagaiaman berikut:

وَقَعَ السُّؤَالُ عَنْ دَقِّ الذَّهَبِ وَالْفِضَّةِ وَأَكْلِهِمَا مُنْفَرِدَيْنِ أَوْ مَعَ انْضِمَامِهَا لِغَيْرِهِمَا مِنْ الْأَدْوِيَةِ هَلْ يَجُوزُ ذَلِكَ كَغَيْرِهِ مِنْ سَائِرِ الْأَدْوِيَةِ أَمْ لَا يَجُوزُ لِمَا فِيهِ مِنْ إضَاعَةِ الْمَالِ، وَالْجَوَابُ أَنَّ الظَّاهِرَ أَنْ يُقَالَ فِيهِ أَنَّ الْحَوَازَ لَا شَكَّ فِيهِ حَيْثُ تَرَتَّبَ عَلَيْهِ نَفْعٌ، وَكَذَا إنْ لَمْ يَحْصُلْ مِنْهُ ذَلِكَ لِتَصْرِيحِهِمْ فِي الْأَطْعِمَةِ بِأَنَّ الْحِجَارَةَ وَنَحْوَهَا لَا يَحْرُمُ مِنْهَا إلَّا مَا ضَرَّ بِالْبَدَنِ أَوْ الْعَقْلِ. تحفة المحتاج في شرح المنهاج وحواشي الشرواني والعبادي

Artinya: *"Ada pertanyaan tentang penggunaan serbuk emas dan perak (baik emas dan perak digunakan secara bersama sama atau tidak) untuk keperluan pengobatan. Apakah diperbolehkan atau tidak (ada unsur menyia-nyiakan harta). Ibnu Hajar berpendapat: "bahwa penggunaan serbuk emas dan*

perak boleh jika ada unsur kemanfaatan seperti untuk pengobatan, tetapi bisa menjadi haram bila membahayakan badan dan akal".

Berdasarkan kaidah-kaidah fiqih dapat diinterpretasikan bahwa penggunaan teknologi nanopartikel berbasis perak pada penelitian ini sebagia agen antibakteri tidak bertentangan dengan prinsip-prinsip syariat Islam, selama pengunaannya tidak menimbulkan kemudaratan. Secara ilmiah, penelitian ini membuktikan bahwa nanopartikel perak memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap berbagai jenis patogen penyebab infeksi, baik yang tergolong bakteri Gram-positif maupun Gram-negatif. Penelitian ini berperan sebagai salah satu langkah dalam pengembangan agen antibakteri berbasis bahan alam yang halal dan ramah lingkungan, dengan memanfaatkan ekstrak daun *P. betle* sebagai agen bioreduktor dalam sintesis nanopartikel perak (AgNPs).

Penggunaan bahan alam seperti daun siirh hijau dalam sintesis nanopartikel perak tidak hanya mencerminkan kemajuan ilmu pengetahuan, tetpai juga selaras dengan nilai-nilai Islam yang mendorong pemanfaatan ciptaan Allah SWT secara bijak dan bertanggung jawab. Dalam Al-Qur'an, Allah SWT menegaskan bahwa setiap ciptaan-Nya memilki tujuan dan tidak diciptakan dengan sia-sia, sebagaimana tercantum dalam Q.S Ali-Imran ayat 191:

الَّذِيْنَ يَذْكُرُوْنَ اللّٰهَ قِيَامًا وَّقُعُوْدًا وَّعَلٰى جُنُوْبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُوْنَ فِيْ خَلْقِ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِۚ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هٰذَا بَاطِلًاۚ سُبْحٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: "*(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk, atau dalam keadaan berbaring, dan memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), "Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia. Mahasuci Engkau. Lindungilah kami dari azab neraka".*

Tafsir Al-Qur'anul Majid An-Nuur menurut Ash-Shiddieqy pada ayat di atas menggambarkan pentingnya penggunaan akal dalam memahami dan merenungi ciptaan Allah SWT. Orang yang berakal adalah mereka yang senantiasa

mengingat Allah dan berpikir secara mendalam mengenai penciptaan alam semesta, rahasia di balik kejadian-kejadiannya, serta kemanfaatan yang terkandung di dalamnya. Semua ciptaan Allah, sebagaimana yang diterangkan dalam ayat ini, memiliki tujuan dan manfaat yang tidak sia-sia. Hal ini sejalan dengan prinsip ilmiah yang mendorong manusia untuk menggali potensi dan manfaat yang terkandung dalam ciptaan-Nya. Salah satunya adalah penelitian terhadap ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) yang digunakan untuk sintesis nanopartikel perak (AgNPs). Ekstrak tersebut berfungsi sebagai agen pereduksi dalam pembuatan nanopartikel perak, yang selanjutnya diuji untuk aktivitas antibakterinya yang berpotensi memberikan manfaat bagi kesehatan manusia.

BAB V
PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Nanopartikel perak (AgNPs) yang disintesis menggunakan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle*) menunjukkan perubahan warna dari kuning menjadi kecoklatan mengindikasikan keberhasilan sintesis.
2. Nilai absorbansi nanopartikel perak (AgNPs) yang disintesis menggunakan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle*) berdasarkan spektrofotometri UV-Vis yaitu 4.2 A pada panjang gelombnag 460 nm, mengindikasikan keberhasilan sintesis.
3. Aktivitas antibakteri AgNPs ekstrak daun sirih hijau lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram-negatif (*P.aeruginosa*) dibandingkan dengan Gram-positif (*S. aureus)*. Diameter zona hambat terhadap *P. aeruginosa* berkisar antara 11,17–14,20 mm, yang tergolong kategori kuat, sedangkan terhadap *S. aureus* zona hambatnya berkisar antara 9,4–12,6 mm, yang termasuk kategori sedang hingga kuat.
4. Nilai KHM terhadap *S.aureus* dan *P.aeruginosa* masing-masing tercatat sebesar 6,25 µg/mL dan 1,562 µg/mL. Sementara itu, nilai KBM untuk *S. aureus* adalah 12,5 µg/mL dan untuk *P. aeruginosa* sebesar 6,25 µg/mL.

5.2 Saran

Saran penelitian ini sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan karakterisasi lanjutan terhadap AgNPs menggunakan teknik seperti, *Scanning Electron Microscopy* (SEM), *Dynamic Light Scattering* (DLS), atau *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR).

2. Perlu dilakukan pengukuran nilai KHM secara kuantitatif menggunakan *microplate reader.*
3. Perlu dilakukan pengujian terhadap mikroorganisme lain untuk mengetahui spektrum aktivitas antimikroba secara lebih luas.

DAFTAR PUSTAKA

Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam, ITB Press Bandung.* Bandung: ITB Press.

Al-Qur'an, L. P., Litbang, B., RI, D. K., & (LIPI), L. I. 2010. *Tumbuhan Dalam Perspektif Al-Qur'an dan Sains.* Jakarta : Lajnah Pentashihan Mushaf al-Qur‟an.

Alvin, W., Orbaek., Mary, M.M., & Barron, A. R. 2015. Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles for an Undergraduate Laboratory. *Journal Chemical Eeducation.*1-6.

Anas, M. 2024. *Bioinformatika Imunologi: Mengevaluasi dan Memprediksi Respon Imun Melalui Pemanfaatan Teknologi Terkini.* Surabaya: UM Suarabaya Publishing.

Anderson, V.R., & Perry, C.M. 2008. Levofloxacin : A Review Of Its Use As A High-Dose, Short-Course Treatment For Bacterial Infection. *Drug*. 68(4): 535-565.

Anjum, S., & Abassi, H.A. 2016. Biomimetic Synthesis of Antimicrobila Silver Nanoparticles using In Vitri-Propagated Plantlets of a Medicinally Important Endangered Species: *Phlomis bracteosa*. *International Journal of Nanomedicine*. 2016(11): 1663-1675/

Almatroudi, A. 2020. Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterisation And Biomedical Applications. *Open Life Sci*. 15(1):819–839.

Arambewala, L., Arawwawala, L., Kumaratunga, K., Dissanayake, D., Ratnooriya, W., & Kumarasingha, S. 2011. Investigations On *Piper betle* Grown In Sri Lanka. *Pharmacogn Rev. 5*(10):159-163.

Arisman. 2009. *Keracunan Makanan Buku Ajar Ilmu Gizi.* Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Ariyanta, H. 2016. Preparasi Nanopartikel Perak dengan Metode Reduksi dan Aplikasinya Sebagai Antibakteri Penyebab Luka Infeksi. *Media Kesehatan Masyarakat Indonesia. 10*(1):36-42.

Arsalan, M., Zuhdiyah, & Sunusi, Z. 2022. Nilai Pendidikan Islam Dalam Al-Qur'an Surat 'Abasa. *Al-Hikmah : Jurnal Pendidikan dan Pendidikan Agama Islam. 4*(2):138-149.

As-Sa'di, S. A. 2012. *Taisir Al-Karim Ar-Rahman Fi Tafsir Kalam Al-Mannan.* Jakarta: Darul Haq.

Ash-Shiddieqy, T.M.H. 2000. *Tafsir Al-Qur'anul Majid An-Nuur*. Semarang: Pustaka Rizki Putra.

Awwad, M.A ., Salem, M.N., & Abdeen O.A. 2013. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Carob Leaf Extract and Its Antibacterial Activity. *International Journal of Industrial Chemsitry*. 4: 1-6.

Azwanida, N. N. 2015. A Review On The Extraction Methods Use In Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Med Aromat Plant. 4*(196).

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. 2016. Methods For In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *Journal of Pharmaceutical Analysis. 6*(2):71-79.

Bapat, R. A., Chaubal, T. V., Joshi, C. P., Bapat, P. R., Choudury, H., Pandey, M., . . . Kesharwani, P. 2018. An Overview Of Application Of Silver Nanoparticles For Biomaterials In Dentistry. *Materials Science and Engineering: C. 91*:881-898.

Brooks, G., Janet, S., Stephen, A. J., Melnick, & Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology).* Jakarta: Salemba Medika.

Boower, W.A., Yu, Y., Person, M.K., Parker.C.M., Kennedy, J.L., Sue, D., Hesse, E,M., & Hendricks, K.A. 2023. Pedoman CDC untuk Pencegahan dan Pengobatan Antraks. *MMWR Recomm Rep*. 72(6): 1-47.

Bush, L.M., Chaparro, R.F., Okeh, V., & Etienne, J. 2011. Pengalaman Klinis Kumulatif Selama Lebih Dari Satu Dekade Penggunaan Levofloxacin Pada Infeksi Saluran Kemih: Penilaian Kritis Dan Peran Dalam Terapi. *Infect Drug Resist*. 4: 177-189.

Buzea, C., Pacheco, I., & Robbie, K. 2007. Nanomaterials and Nanoparticles: Sources and Toxicity. *Biointerphases. 2*(4).

Cervantes-García, E., Torres, A. R., Gonzales, R. G., & Albor, A. A. 2015. *Staphylococcus aureus* Small Colony Variants In Diabetic Foot Infections. *Diabetic Foot & Ankle. 6*:1-5.

Chairunnisa, S., Wartini, N.M., & Suhendra, L. 2019. Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 7(4).

Cheng, C.Y., Song, J., Pas, J., Lenny.H.H., & Han, S. 2015. DMSO Induces Dehydration near Lipid Membrane Surfaces. *Biophysical Journal*. 2: 330-339.

Chugh, D., Viswamalya, V.S., & Das, B. 2021. Green Synthesis of Silver Nanoparticles With Algae and The Importance of Capping Agents Inthe Process. *Journal of Genetic Engineering And Biotechnology*. 19(1).

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2021. Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing. An Informational Supplement For Global Application Developed Through The Clinical aAnd Laboratory Standards Institute. *In Clinical and Laboratory Standards Institute*. 33(1).

Colling, E., Suryanto, E., & Wuntu, A. 2018. Aktivitas Antifotooksidasi Nanopartikel Perak Yang Disintesis Menggunakan Kulit Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca* L.). *Chem. Prog. 11*(2):69-73.

Cristian, B., Mejos., Joshua, G., Poblete, P., Jean, C., Sarino, M.A., & Fatima, I. 2023. Antibacterial Activity of *Andrographis paniculata* and *Piper betle* and their Interactive Effects with Amoxicillin Against Selected Respiratory Pathogens. *Cruzada*. 1-29.

Dakal, T. C., Kumar, A., Majumdar, R. S., & Yadav, V. 2016. Mechanistic Basis of Antimicrobial Actions of Silver Nanoparticles. *Front. Microbiol. 7*:1-17.

Dewi, A. K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sains Veteriner. 31*(2):138-150.

Dewi, R., Febriani, A., & Wenas, D. 2019. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes* dan Khamir *Malassezia furfur*. *Sainstech Farma: Jurnal Ilmu Kefarmasian. 12*(1):32-38.

Dianda, T., & Suharti, P. 2022. Pengaruh Waktu dan Kadar Etanol Pada Maserasi Lidah Buaya Terhadap Antiseptik Hand Sanitizer Gel. *Jurnal Teknologi Separasi. 8*(4):1000-1008.

Diggle, S., & Whiteley, M. 2019. Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: Opportunistic Pathogen And Lab Rat. *Microbiology (Reading). 166*(1):30-33.

Dunn, K., & Edwards-Jones, V. 2004. The Role of Acticoat with Nanocrystalline Silver in the Management of Burns. *Burns. 30*(1):1-9.

Dwandaru, W., & Janah, N.M. 2018. *Nano Material: Quantum Dot, Nanopartikel Perak, Graphene, dan Bakteri.* UNY Press.

Efriani, L., Putra, T.A., & Fitriyani, F. 2025. Analisis Efektivitas Antibiotik Levofloxacin Dan Ceftriaxon Pada Pasien Pneumonia di Instalasi Rawat Inap RSD X Kota Cirebon. *Journal Of Pharmaceutical and Sciences*. 8(1): 564-570.

Ekawati, E., Husnul, Y., & Herawati, D. 2018. Identifikasi Kuman Pada Pus Dari Luka Infeksi Kulit. *Jurnal Sain Helath. 2*(1):31-35.

Erika, R. 2021. Bioseintesis Nanopartikel Perak (AgNPs) Menggunakan Ekstrak Daun Mangrove Perepat (*Sonneratia alba*) Untuk Analisis Kloramfenikol Secara Kolorimetri. *Skripsi.* Jurusan Kimia. Fakultas MIPA. Universitas Mulawarman.

Ezhilarasu,. H., Vishalli, D., Dheen, S., Bay, B., & Srinivasan, D. 2020. Nanoparticle-Based Therapeutic Approach for Diabetic Wound Healing. *Nanomaterials, 10*(6).

Fasha, F., & Yapa, N. 2023. Development of an Antimicrobial Topical Skin Cream with Using Wood Apple (*Limonia acidissima* L.) Pulp Against *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology. 11*(2):292–295.

Febrina, L., Rusli , R., & Mutflihah, F. 2015. Optimalisasi Ekstraksi Dan Uji Metabolit Sekunder Tumbuhan Libo (*Ficus variegate blume*). *J. Trop. Pharm. Chem. 3*(2):74-81.

Filho, S. A., Santos, M. S., Santos, O. A., Backx, B. P., Soran, M. L., Opris, O., . . . Bououdina, M. 2023. Biosynthesis of Nanoparticles Using Plant Extracts and Essential Oils. *Molecules. 28*.

Firmansyah, & Sandistira, A. 2020. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Daun Talas (*Colocasia esculenta* L.) terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Jurnal Kesehatan Yamasi. 4*(1):79-86.

GBD. Global Burden of Disease of 87 Risk Factors in 204 Countries and Territories, 1990-2019: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. 396:1204-1222

Gill, A., Tamber, S., & Yang, X. 2024. *Standard methods for the bacteriological analysis of meat.* Amsterdam: Elsevier.

Gopal, J., Muthu, M., & Chun, S. 2016. Bactericidal Property of Marco-Micro and Nanocurcumin: An Assessment. *Arab J Sci Eng. 41*(6):2087-2093.

Guntur, A., Selena, M., Bella, A., Leonarda, G., Leda, A., Setyaningsih, D., & Riswanto, F. D. 2021. Kemangi (*Ocimum basilicum* L.): Kandungan Kimia, Teknik Ekstraksi, dan Uji Aktivitas Antibakteri. *Journal Food and Pharmaceutical Sciences. 9*(3):513-528.

Hainil, S., Sammulia, S. F., & Adella. 2022. Aktivitas Antibakteri *Staphyloccocos aureus* dan *Salmonella thypi* Ekstrak Metanol Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*). *Jurnal Surya Medika. 7*(2):86-95.

Hajipour, M., Fromm, K., Ashkarran, A., deAberasturi, D., de Larramendi, I., Rojo, T., & Mahmoudi, M. 2012. Antibacterial Properties of Nanoparticles. *Trends nn Biotechnology. 30*(10):499-511.

Hamka. 1990. *Tafsir Al-Azhar*. Singapura: Pustaka Nasional PTE LTD.

Hapsari, I. P. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L.) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat. *Jurnal Buana Farma.* 1(1):10-16.

Hasanah, A.N., & Roto. 2013. Sintesis Perak Nanopartikel (Ag-NP) Menggunakan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*P. betle*) Serta Uji Aktivitasnya Terhadap Bakteri *E.coli* dan *S.aureus*. *Skripsi.* Jurusan Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Gadjah Mada

Haque, S., & Patra, C. R. 2021. Chapter Eleven - Biosynthesized nanoparticles (Gold, Silver and Platinum): Therapeutic Role in Angiogenesis. *Comprehensive Analytical Chemistry. 94*:471-505.

Hasriyani, Zulfa, A., Anggun, L., & Murhayati, R. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Biji Lada Hitam (*Piper nigrum* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesia Jurnal Farmasi. 5*(2):14-18.

Hidayah, N., Hisan, A. K., Solikin, A., Irawati, I., & Mustikaningtyas, D. 2016. Uji Efektivitas Ekstrak *Sargassum muticum* Sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat Aktivitas *Staphylococcus aureus. Journal of Creativity Student*. 1(2).

HiMedia. 2018. *Technical data Mueller Hinton Agar*.

HiMedia. 2019. *Technical data Mueller Hinton Broth*.

Huda, C., Putri, A.E., & Sari, D.W. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi dari *Maserat Zibethinus* folium terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Sains Heath*. 3(1).

Iglewski, B. 1996. *Mikrobiologi Medis. Edisi ke-4.* Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston.

iNaturalis.org.Sirih Hijau (*Piper betle*). *https://www.inaturalist.org/taxa/347653-Piper-betle/browse_photos*. Diakses tanggal 1 Mei 2025.

Isnarianti, R., Wahyudi, I. A., & Puspita, R. M. 2013. *Muntingia calabura* L Leaves Extract Inhibits Glucosyltransferase Activity of *Streptococcus mutans*. *Journal of Dentistry Indonesia. 20*(3):59-63.

Isola, G., Sanusi, Y., Ayanlola, P., & Akinyole, M. 2021. Optimizing X-Ray Imaging Using Plant Mediated Gold Nanoparticles as Contrast Agent: A Review. *International Journal of Research and Scientific Innovation. 8*(8): 169-175.

Jabeen, S., Qureshi., Munazir, M., & Maqsood, M. 2021. Application Of Green Synthesized Silver Nanoparticles In Cancer Treatment. *Material Research Express*. 8(9).

Jahan, M., Rahman , M., Ziqrul , S. M., & Parvej, M. S. 2015. Isolation and Characterization of *Staphylococcus aureus* from Raw Cow Milk in Bangladesh. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research. 2*(1): 49-55.

Javed, M.A., Ali, B., Sarfraz, M.H., Ali, S., Liaqat, E., Afzal, M.S., Wang, Y., Peng, L., Rehman, A., & Elshikh, S. 2024. Biosynthesis and Characterization of Silver Nanoparticles from *Cedrela toona* Leaf Extracts: an Exploration Into

Their Antibacterial, Anticancer, And Antioxidant Potenfreential. *Green Processsing and Syhnthesis.* 13(1).

Kaabipour, S., & Hemmati, S. 2020. A Review On The Green And Sustainable Synthesis Of Silver Nanoparticles and One-Dimensional Silver Nanostructures. *Beilstein J. Nanotechnol*. 12: 102–136.

Kaiser, K., Delattre, V., Frost, V., Buck, G., Phu, J., Fernandez, T., & Pavel, I. 2023. Nanosilver: An Old Antibacterial Agent with Great Promise in the Fight against Antibiotic Resistance. *Antibiotics. 12*(8).

Khairullah, F., & Hasan, R. 2020. The Effectiveness Test Of Betel Leaf Extract Toward The Development of *Aedes Eegypt*i Sp Larvae. *Biosepecies. 13*(1): 1-7.

Khan, M., Shaik, M.R., Adil, S.F., Khan, S.T., Al-Warthan, A., Siddiqui, M.R.H., Tahit, M., & Tremel, W. 2018. Plant Extracts As Green Reductants for The Synthesis of Silver Nanoparticles: Lessons From Chemical Synthesis. *Dalton Transactions.* 35(1).

Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. 2019. Nanoparticles: Properties, Applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry. 12*(7):908-931.

Khan, Z. A., Siddiqui, M. F., & Park, S. 2019. Current and Emerging Methods of Antibiotic Susceptibility Testing. *Diagnostics 49*:1-17.

Khandel, P., & Kumar, S. S. 2016. Microbes Mediated Synthesis of Metal Nanoparticles: Current Status and Future Prospects. *International Journal of Nanomaterials and Biostructures. 6*(1):1-24.

Kindersley, D. 2010. *Ensiklopedia Tematis Eyewitness Tumbuhan.* Jakarta: Erlangga.

Kucuk, N., Primozic, M., Knez, Z., & Leitgeb, M. 2023. Sustainable Biodegradable Biopolymer-Based Nanoparticles for Healthcare Applications. *Int. J. Mol. Sci. 24*(4).

Kusumaningrum, N. 2016. Uji Aktivitas Antimalaria Daun *Helianthus annus* L. Dengan Ekstraksi Bertingkat Terhadap *Plasmodium falciparum* Secara In Vitro. *Skripsi.* Jurusan Farmasi. Fakultas Farmasi. Universitas Airlangga.

Kvitek, L., Panacek, A., Prucek, A., Soukupova., Vanickova, M., Kolar, M., & Zboril, R. 2011. Antibacterial Activity and Toxicity of Silver - Nanosilver Versus Ionic Silver. *Journal of Physics.* 304: 1-9.

LaBauve, A. E., & Wargo, M. 2015. Growth and Laboratory Maintenance of *Pseudomonas aeruginosa*. *Curr Protoc Microbiol*. 6(6).

Larasati, A., Marmaini, M., & Kartika, T. 2019. Inventarisasi Tumbuhan Berkhasiat Obat Di Sekitar Pekarangan di Kelurahan Sentosa. *Indoniosains. 1*(2):76-87.

Lee, S. H., & Jun, B. H. 2019. Silver Nanoparticles: Synthesis and Application for Nanomedicine. *International Journal of Molecular Sciences. 20*(4).

Leksono, A. 2011. *Keanekaragaman Hayati.* Malang: UB Press.

Liao, S., Zhang, Y., Pan, X., Zhu, F., Jiang, C., Liu, Q., Cheng, Z., Dai, G., Wu, G., Wang, L., & Chen, L. 2019. Antibacterial Activity and Mechanism of Silver Nanoparticles Against Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa. Int J Nanomedicine.* 25(14): 1469-1487.

Lim, J., Park, H., Cho, S., & Yoon, H. 2018. Antibiotic Susceptibility and Treatment Response in Bacterial Skin Infection. *Annals of Dermatology. 30*(2): 186-191.

Linggama, G. A., Montolalu, L. A., Salindeho, N., Taher , N., Harikedua, S. D., Makapedua, D. M., & Damongilala, L. 2019. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Rebusan Daun Mangrove Segar Sonneratia Alba di Desa Wori Kabupaten Minahasa Utara. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan. 7*(2):41-45.

Liu X., Chen J.L., Yang W.Y., Qian Y.C., Pan J.Y., Zhu C.N., Liu L., Ou W.B., Zhao H.X., & Zhang D.P. 2021. Biosynthesis of Silver Nanoparticles with Antimicrobial and Anticancer Properties Using Two Novel Yeasts. *Sci. Rep.* 11(1).

Lukaraja, W., Lessy, W., Seumahu, C. A., & Pesik, A. 2020. Aktivitas Antibakteri Dan Penghambatan Biofilm Ekstrak Metanol Kulit Batang *Hibiscus tiliaceus* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. *Rumphius Pattimura Biological Journal. 2*(2):37-43.

Maarebia, R. Z., Wahid Wahab, A., & Taba, P. 2019. Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Using Water Extract of Sarang Semut (*Myrmecodia pendans*) For Blood Glucose Sensors. *Jurnal Akta Kimia Indonesia (Indonesia Chimica Acta)*. 12(1): 29-46.

Magvirah, T., Marwati, & Ardhani, F. 2019. Uji Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Menggunakan Ektrak Daun Tahongai (*Kleinhovia hospita* L.). *Jurnal Peternakan Lingkungan Tropis. 2*(2):41-50.

Mallikarjuna, N., & Varma, R. 2007. Microwave-Assisted Shape-Con-Trolled Bulk Synthesis of Noble Nanocrystals And Their Catalyticproperties. *Cryst. Growth Des. 7*(4):686-690.

Mania, M., Pavithraa, S., Mohanrajb, S., Kumarasena., Alotaibic, S.S., Mostafa, M., Eraqid, E., Gandhif, A.D., & Kaviyarasu, K. 2021. Studies on the Spectrometric Analysis Of Metallic Silver Nanoparticles (AgNps) Using *Basella alba* Leaf For The Antibacterial Activities. *Environmental Research*. 199(1).

Mantravadi, H., Chuntaparthi, M., & Shravani, V. 2015. Aerobic Isolates in Pus and Their Antibiotic Sensitivity Pattern: A Study Conducted in Tretiary Hospital in Andra Pradesh. *International Journal of Medical Science and Public* Health. 4(8).

Marfu'ah, N., Sha'sha., Luthhfiana., &Ichwanuddin. 2021. Uji Potensi Antibakteri *Staphylococcus aureus* dari Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Pharmasipha: *Pharmaceutical Journal Of Islamic Pharmacy*. 5(1): 1-10.

Masakke, Y., Sulfikar., & Rasyid, M. 2015. Biosintesis Partikel-nano Perak Menggunakan Ekstrak Metanol Daun Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Sainsmat*. 4(1): 28-41.

Maulahibati, F.F., Syarifah, U., & Minarno, E.B. 2023. Studi Tafsir Tematik: Kajian Nanopartikel Menurut Al-Qur'an Serta Pemanfaatannya di Bidang Medis. *Es-Syajar: Journal of Islamic Integration Science and Technology.* 1(2): 89-101.

Masykuroh, A., & Puspasri, H. 2020. Tanaman Keladi Sarawak *Alocasia macrorrhizos* Dalam Biosintesis Nano Partikel Perak (Nnp): Analisis Surface Plasmon Resonance (Spr) Sebagai Fungsi Waktu. *Bioma : Jurnal Biologi Makassar Potensi.* 5(2): 233-240.

Michalak, A. 2006. Phenolic Compound and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress. *Polis Journal of Enviroumental Study* 15(4): 523-530.

Meikle T.G., Dyett B.P., Strachan J.B., White J., Drummond C.J., & Conn C.E. 2020. Preparation, Characterization, and Antimicrobial Activity of Cubosome Encapsulated Metal Nanocrystals. *ACS Appl. Mater. Interf.* 12: 6944-6954.

Mitra, B., Visnhudas, D., Sant, S. B., & Annamalai, A. 2012. Green-Synthesis and Charactherization of Silver Nanoparticles By Aqueous Leaf Extract Of *Cardiospermum helicacabum* Leaves. *Drug Invention Today. 4*(2):340-344.

Moon, J., Kwak, J., & An, J. 2019. The Effects of Silver Nanomaterial Shape and Size on Toxicity to Caenorhabditis Elegans in Soil Media. *Chemosphere, 215*:50-66.

More, P.R., Pandhit, S., Filippis, A.D., Franci, G., Mijakovic, I., & Galdiero, M. 2023. Silver Nanoparticles: Bactericidal and Mechanistic Approach against Drug Resistant Pathogens. *Microorganisms.* 11(2): 369.

Mudassir, M., Raza, A., Munir, S., Basirat, A., Ahmed, M., Butt, M., . . . Naqyi, S. 2022. Antibacterial Efficacy of Silver Nanoparticles (AgNPs) against Metallo-B-Lactamase and Extended Spectrum B-Lactamase Producing Clinically Procured Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Scientific reports. 12*(1).

Munira, & Nasir, M. 2023. Uji Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata)* dari Geothermal Ie Seum Aceh Besar terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Sago Gizi dan Kesehatan. 4*(2):179-185.

Mursal, I. L. 2018. Karakterisasi XRD dan SEM Pada Material Nanopartikel Serta Peran Material Nanopartikel dalam Drug Delivery System. *Jurnal Sains dan Ilmu Farmasi. 3*(2):214-221.

Nadeak. 2012. Variasi Temperatur dan Waktu Tahan Kalsinasi terhadap Unjuk Kerja Semikonduktor TiO_2 sebagai Dye Sensitized Solar Cell (DSSC) dengan Dye dari Ekstrak Buah Naga Merah. *Jurnal Teknik.* 1(1).

Nagoba, B., Davane, M., Gandhi, R., B, W., Suryawanshi, N., & Selkar, S. 2017. Treatment of Skin and Soft Tissue Infections Caused by *Pseudomonas aeruginosa*—A review of our Experiences with Citric Acid Over the Past 20 years. *Wound Medicine*. 5-9.

Nasri, N., Kaban, V. E., Satria, D., Syahputra, H. D., & Rani , Z. 2023. Mekanisme Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap *Salmonella typh*i. *Journal of Pharmaceutical and Health Research. 4*(1): 79-84.

Noronha V.T., Paula A.J., Durán G., Galembeck A., Cogo-Müller K., Franz-Montan M., & Durán N. 2017. Silver Nanoparticles in Dentistry. *Dent Mater.* 33(10): 1110-1126.

Oktavia, I., & Suyanto, S. 2021. Article Review: Synthesis of Silver Nanoparticles Using Bioreductor From Plant Extract As an Antioxidant. *UNESA Journal of Chemistry. 10*(1).

Oktavia, L., Budiarti, T., Rahmawati, D., & Trisnowati, E. 2021. Pemanfaatan Tumbuhan Sirih Hijau sebagai Hand Sanitizer Alami Guna Pencegahan

Covid-19 di Dusun Surojoyo. *ABDIPRAJA (Jurnal Pengabdian kepada Masyarakat). 2*(1):19-25.

Oktianti, O., & Hati, A. K. 2023. Edukasi Penggunaan Antibiotik pada Siswa di SMK Nusapersada dan SMK Bhakti Nusantara untuk Mencegah Terjadinya Resistensi. *Jurnal Abdi Masyarakat Indonesia. 3*(4):1181-1186.

Pal, S., Tak, Y. K., & Song, J. M. 2007. The Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on The Shape of The Nanoparticle. A Study of The Gram-Negative Bacterium *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol. 27*: 1712–1720.

Pankey, G.A., & Sabath, L.D. 2004. Clinical Relevance of Bacteriostatic Versus Bactericidal Mechanisms Of Action In The Treatment of Gram-Positive Bacterial Infections. *Clinical Infectious Diseases*. 38(6): 864-870.

Parvekar, P., Palaskar, J., Metgud, S., Maria, R., & Dutta, S. 2020. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) Of Silver Nanoparticles Against *Staphylococcus aureus*. *Biomater Investig Dent. 7*(1): 105-109.

Patra, J.K., & Baek, K.H. 2014. Green Nanobiotechnology: Factors Affecting Synthesis and Characterization Techniques. *Journal of Nanomaterials*. 1: 1-12.

Praba, P., Jeyasundari, J., & Jacob, Y. 2014. Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Piper betle* and its Antibacterial Activity. *European Chemical Bulletin. 3*(10):1014-1016.

Pradhan, D., Suri, K., Pardhan, D., & Biswasroy, P. 2013. Golden Heart of the Nature: *Piper betle* L. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 1*(6): 147-167.

Pratiwi, R. D., Kuswandari, S., & Utomo, R. B. 2023. Antibacterial Effect Of Ethanol Extract of *Moringa oleifera* Seeds Against *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. *Odonto Dental Journal. 10*(2):180-187.

Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi.* Jakarta: Erlangga.

Purnamasari, M. 2015. Sintesis Antibakteri Nanopartikel Perak Menggunakan Bioreduktor Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* Linn) dengan Irradiasi Microwave. *Indonesian Journal of Chemical Sciences*. 5(2).

Purnomo, S. R., Rupiasih, N. N., & Sumadiyasa, M. 2017. Sintesis Nanopartikel Perak Dengan Metode Biologi Menggunakan Ekstrak Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness). *Buletin Fisika. 18*(1):6-11.

Purnomo, S.R. 2017. Studi Sintesis nanopartikel Perak Dengan Metode Biologi Menggunakan Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculate* Ness). *Buletin Fisika*. 18(1).

Putri, A.E. 2022. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) dan Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Penyebab Diare Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 11(3).

Rahmah, W. N., Ramdhani, F. H., & Hidayani, A. 2024. Gambaran Hasil Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dengan Metode DISC dan Sumuran. *Jurnal Surya Medika. 10*(2):344-348.

Rahman, M., Islam, M., Aminuzzaman, F., Latif, A., & Rahman, H. 2020. Physio-morphological Study of Betel Vine (*Piper betle* L.) Cultivars Available in Bangladesh. *The Agriculturists. 18*(1):56-65.

Rahmawati. & Rahmawati, A. 2020. Efektifitas Perasan Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) sebagai Insektisida Alami Terhadap Mortalitas Belalang Hijau (*Oxya serville*). *Jurnal Pedagogos: Jurnal Pendidikan STKIP Bima. 2*(2): 61-65.

Rai, M. P., Thilakchand, K., Palatty, P., Rao, P., Rao, S., Bhat, H., & Baliga, M. 2011. *Piper betel* Linn (betel vine), the Maligned Southeast Asian Medicinal Plant Possesses Cancer Preventive Effects: Time to Reconsider the Wronged Opinion. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP. 12*(9):2149–2156.

Rai, M., Deshmukh, S., Ingle, A. P., Gupta, I. R., Galdiero, M., & Galdiero , S. 2016. Metal Nanoparticles: The Protective Nanoshield Against Virus Infection. *Critical Reviews in Microbiology. 42*(1):46-56.

Rai, M., Kon, K., Ingle, A., Duran, N., Galdiero, S., & Galdiero, M. 2014. Broad-Spectrum Bioactivities of Silver Nanoparticles: The Emerging Trends and Future Prospects. *Appl. Microbiol. Biotechnol. 98*:1951-1961.

Rajalakhsmi, R., N.M, B., Doss, A., R.P.P, P., Rani, T., & Kensa, V. 2024. Eco-Friendly Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles from an Endemic Plant and Their Antibacterial Potency - A Sustainable Approach. *Chemistry of Inorganic Materials. 4*:1-7.

Ramadhani, S., Fifendy, M., & Erlinda, Y. E. 2021. Kultur dan Sensitivitas Antibiotik Pus di UPTD Laboratorium Kesehatan Sumatera Barat. *Prosiding SEMNAS BIO*. 889-897.

Rao, A., Vishwajith., Sampath, S., & Lakshminarayana. 2019. Ventilator Associated Pneumonia: An Enduring Hitch in Intensive Care Units. *Indian Journal of Microbiology Research*. 6(3): 194-197.

Rashida, M., Islam, S., Haque, H., Rahman, A., Hossain, T., & Hamid, A. 2016. Antibacterial Activity of Polyaniline Coated Silver Nanoparticles Synthesized from *Piper betle* Leaves Extract. *Iran J Pharm Res*.15 (2): 591–597.

Ravindran, P., Pillai, G., & Babu, K. 2004. Under-utilized herbs and spices. *Handbook of Herbs and Spices. 2*:53-103.

Razali, M. 2021. Penggunaan Manusia Sebagai Relawan dalam Ujicoba Obat Baru: Kajian Alquran, Hadis dan Kaedah Fiqih. *El-Usrah: Jurnal Hukum Keluarga. 4*(1):64-75.

Ridwan, R., Gusrizal, G., Nurlina, N., & Santosa, S. 2019. Sintesis dan Studi Stabilitas Nanopartikel Perak Tertudung Asam Salisilat. *Indo.J.Pure App.Chem. 1*(3):33-34.

Rizki, S. A., Latief, M., Fitrianingsih, & Rahman, H. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat, dan Etanol Daun Durian (*Durio zibethinus* Linn.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *JAMHEISC*. 442-457.

Romadhoni, N. T. 2020. Uji Aktivitas Antimikroba Nanopartikel Kombinasi *Allium sativum* Linn., *Curcuma mangga* Val. dan *Acorus calamus* L. Secara in Vitro. *Skripsi.* Malang : Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi.

Rosli, N., Teow, Y., & Mahmoudi, E. 2021. Current Approaches for the Exploration of Antimicrobial Activities of Nanoparticles. *Sci. Technol. Adv. Mater. 22*:885–907.

Rosmania & Yanti , F. 2020. Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains. 22*(2):76-86.

Sahli, I. T. 2023. *Protein Biofilm Bakteri Staphylococcus aureus dan Produksi Antibodi Poliklonal.* Bandung: Feniks Muda Sejahtera.

Saidah, H., Cahyadi, A., & Windria, S. 2022. Kajian Potensi Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) sebagai Antibakteri. *Jurnal Sain Veteriner. 40*(2):128-138.

Sangdee, A.K., Bunchalee, P., & Seephonkai. 2021. Aktivitas Antibakteri dan Mekanisme Kerja Trigonostemone terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus. Trop. Biomed*. 38 (4): 484-490.

Sangwan, J., Singla, P., Mane, P., Lathwal, S., & Malik, A. 2016. Prevalence and Antimicrobial Susceptibility Patterns of Aerobic Bacterial Isolates from Pyogenic Wound Infections at a Tertiary Care Institute in Haryana, India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 5*(2): 78-85.

Saravan, M., Barik, S. K., Mubarak, D., Prakash, P., & Pugazhendhi, A. 2018. Synthesis of Silver Nanoparticles from *Bacillus brevis* (NCIM 2533) and Their Antibacterial Activity Against Pathogenic Bacteria. *Microbial Pathogenesis. 116*:221-226.

Sari, R., Apridamayanti, P., & Pratiwi, L. 2022. Efektivitas SNEDDS Kombinasi Fraksi Etil Asetat Daun Cengkodok (*Melasthoma malabathricum*) Antibiotik terhadap Bakteri Hasil Isolat dari Pasien Ulkus Diabetik. *Pharmaceutical Journal of Indonesia.* 7(2): 105-114.

Satyaprakash, A., Ravanar, P., & Tyring, S. 2010. Skin and Soft-Tissue Infections. *Antibiotic and Chemotherapy (Ninth Edition)*. 617-632.

Saussereau, E., & Debarbieux. 2012. Chapter 4 - Bacteriophages in the Experimental Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections in Mice. *Advances in Virus Research, 83*:123-141.

Scalise, A., Bianchi, A., Tartaglione, C., Bolleta, E., Pierangeli, M., Torresetti, M., . . . Benedetto, G. 2015. Microenvironment and Microbiology of Skin Wounds: The Role of Bacterial Biofilms and Related Factors. *Semin Vasc Surg. 28*.

Shaikh S., Nazam N., Rizvi S.M.D., Ahmad K., Baig M.H., Lee E.J., & Choi I. 2019. Mechanistic Insights into the Antimicrobial Actions of Metallic Nanoparticles and Their Implications for Multidrug Resistance. *Int. J. Mol. Sci.* 20.

Shahzaib, M.F., Nishat, N., Jahan, A., Bhat, T.A., & Inam, A. 2024. Green Synthesis of Silver Nanoparticles: A Comprehensive Review of Methods, Influencing Factors, and Applications. *JCIS Open.* 16.

Sheikoleslami, S., Mousavi, S., Ashtiani, H., Doust, S., & Rezayat, S. 2016. Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles and Their Combination with *Zataria multiflora* Essential Oil and Methanol Extract. *Jundishapur J Microbiol. 9*(10).

Shihab, M. 2002. *Tafsir al-Misbah (Pesan, Kesan, dan Keserasian al-Qur'an).* Jakarta: Lentera Hati.

Shihab, M.Q. 2009. *Tafsir al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qu'ran*. Jakarta: Lentera Hati.

Shina, M.A.I., Wardani, T.S., & Artini K.S. 2024. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak, Fraksi Air, Fraksi Etil Asetat, Fraksi n-Heksan Daun Petai Cina (*Leucaena leucocephala*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 . *Obat: Jurnal Riset Ilmu Farmasi dan Kesehatan.* 2(6):1-37.

Singh, M., Singh, S., Prasad, S., & Gambhir, I. S. 2008. Nanotechnology in Medicine and Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures. 3*(3):115-122.

Singh, S., Khare, R., Patidar, S., Bagde, K., Sahare, D., Dwevedi, & Singh, V. 2013. Antibacterial Activities Against Pyogenic Pathgogens. *Int JOur Of Pyogenic Pathogens. 4*(8):2974-2979.

Singh, K., Panghal, M., Kadyan, S., Chaudhary, U., & Yadav, J. 2014. Green Silver Nanoparticles of *Phyllanthus amarus*:As An Antibacterial Agent Against Multi Drug Resistant Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Nanobiotechnology. 12*(40):1-9.

Singh, R., Shedbalkar, U., Wadhwani, S.A., & Chopade, B.A. 2015. Bacteriagenic Silver Nanoparticles: Synthesis, Mechanism, and Applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 99: 4579-4593.

Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran.* Jakarta : CV. Sagung Seto.

Soesetyaningsih, E., & Azizah. 2020. Akurasi Perhitungan Bakteri pada Daging Sapi Menggunakan Metode Hitung Cawan. *Berkala Sainstek. 8*(3):75-79.

Syaiama, H., Hindryawati, N., Hiyahara, I. h., Wirawan, T., Arief , M. S., & Widodo, N. T. 2023. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Ketapang Leaf Extract (*Terminalia catappa* L.) Assited by Ultrasound for Photodegradation of Methylene Blue. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan. 12*(2):166-173.

Taba, P., Parmitha, N. Y., & Kasim , S. 2019. Sintesis Nanopartikel Perak Menggunakan Ekstrak Daun Salam (S*yzygium polyanthum*) Sebagai Bioreduktor dan Uji Aktivitasnya Sebagai Antioksidan. *Indo J. Chem. Res. 7*(1):51-60.

Taixeira, M., Sanches-Lopez, E., Espina, M., Calpena, A., Silva, A., Veiga, F., & Soutu, E. 2018. Advances in Antibiotic Nanotherapy: Overcoming Antimicrobial Resistance. *Emerging Nanotechnologies in Immunology*, 233-259.

Tang, C., & Chen, V. 2004. The Photocatalytic Degradation of Reactive Black 5 Using TiO_2/UV in An Annular Photoreactor. *Water Research*. 38: 2775-2781.

Taylor, T. A., & Unakal, C. G. 2023. *Staphylococcus aureus Infection.* Amerika Serikat: StatPearls Publishing.

Tesfaye, M., Gonfa, Y., Tadesse, G., Temesgen, T.M., & Periyasamy, S. 2023. Green Synthesis Of Silver Nanoparticles Using *Vernonia amygdalina* Plant Extract And Its Antimicrobial Activities. *Journal Heliyon.* 9(6).

Todar, K. 2012. *Text of Bacteriology: Pseudomonas aeruginosa.* USA: University of Wisconsin-Madison Departemen of Bacteriology.

Tuhuloula, A., Budiyarti, L., & Fitriana, E. N. 2013. Karakterisasi Pektin dengan Memanfaatkan Limbah Kulit Pisang Menggunakan Metode Ekstraksi. *Konversi. 2*(1):21-27.

Tuntun, M. 2016. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan. 7*(3):497-502.

Ulung, G. 2014. *Sehat Alami Dengan Herbal: 250 Tanaman Berkhasiat Obat dan 60 Resep Makanan & Minuman Sehat.* Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.

Urnukhsaikhan, E., Bold, B.E., Gunbileg, A., Sukhbaatar, N., & Ochir, T.M. 2021. Antibacterial Activity and Characteristics of Silver Nanoparticles Biosynthesized From *Carduus crispus. Scientific Reports.* 11.

Wahab A. W., Karim, A., Nafie, N. L., Nurafni, N., & Sutapa I. W. 2018. Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Muntingia calabura* L. Leaf Extract As Bioreductor and Applied As Glucose Nanosensor. *Orient J Chem*. 34(6).

Wahab, S., Khan T., Adil M., & Khan A. 2021. Mechanistic Aspects of Plant-Based Silver Nanoparticles Against Multi-Drug Resistant Bacteria. *Heliyon*. 1(7).

Wahyudi, T., Doni, S., & Qomarudin, H. 2011. Sintesis Nanopartikel Perak dan Uji Aktivitasnya terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. Aureus. Arena Tekstil. 26*(1): 1-60.

Wang, L., Hu, C., Shao, L. 2017. The Antimicrobial Activity of Nanoparticles: Present Situation and Prospects For The Future. *Int J Nanomedicine*. 14(12): 1227–1249.

Wasito, H. 2008. Meningkatkan Peran Perguruan Tinggi melalui Pengembangan Obat Tradisional. *Mimbar. 24*(2):117-127.

Wendersteyt, N., Wewengkang, D., & Abdullah, S. 2021. Uji Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak dan Fraksi Ascidian *Herdmania momus* Dari Perairan Pulau Bangka Likupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus, Salmonella typhimurium* dan *Candida albicans*. *PHARMACON.* 10(1):706-712.

World Health Organization. 2020. *Ederly Patient.*WHO.pp 1-8.

Widiyastuti, Y., Haryanti, S., & Subositi, D. 2013. Karakterisasi Morfologi Dan Kandungan Minyak Atsiri Beberapa Jenis Sirih (*Piper* sp.). *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia. 6*(2):86-93.

Wu, D., Chan, W. W., Metelitsa, A. I., Fiorillo, L., & Lin, A. 2011. *Pseudomonas aeruginosa* Skin Infection. *American Journal of Clinical Dermatology. 12*:157-169.

Yasacaxena, L. N., Defi , M. N., Kandari, V. P., Weru, P. T., Papilaya, F. E., Oktafera, M., & Setyaningsih, D. 2023. Review: Ekstraksi Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dan Aktivitas. *Jurnal Jamu Indonesia. 8*(1): 10-17.

Yin, I. X., Zhang, J., Zhao, I. S., Mei, L. M., Li, Q., & Chu, C. H. 2020. The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and its Application in Dentistry. *Int J Nanomedicine.* 17(15): 2555–2562.

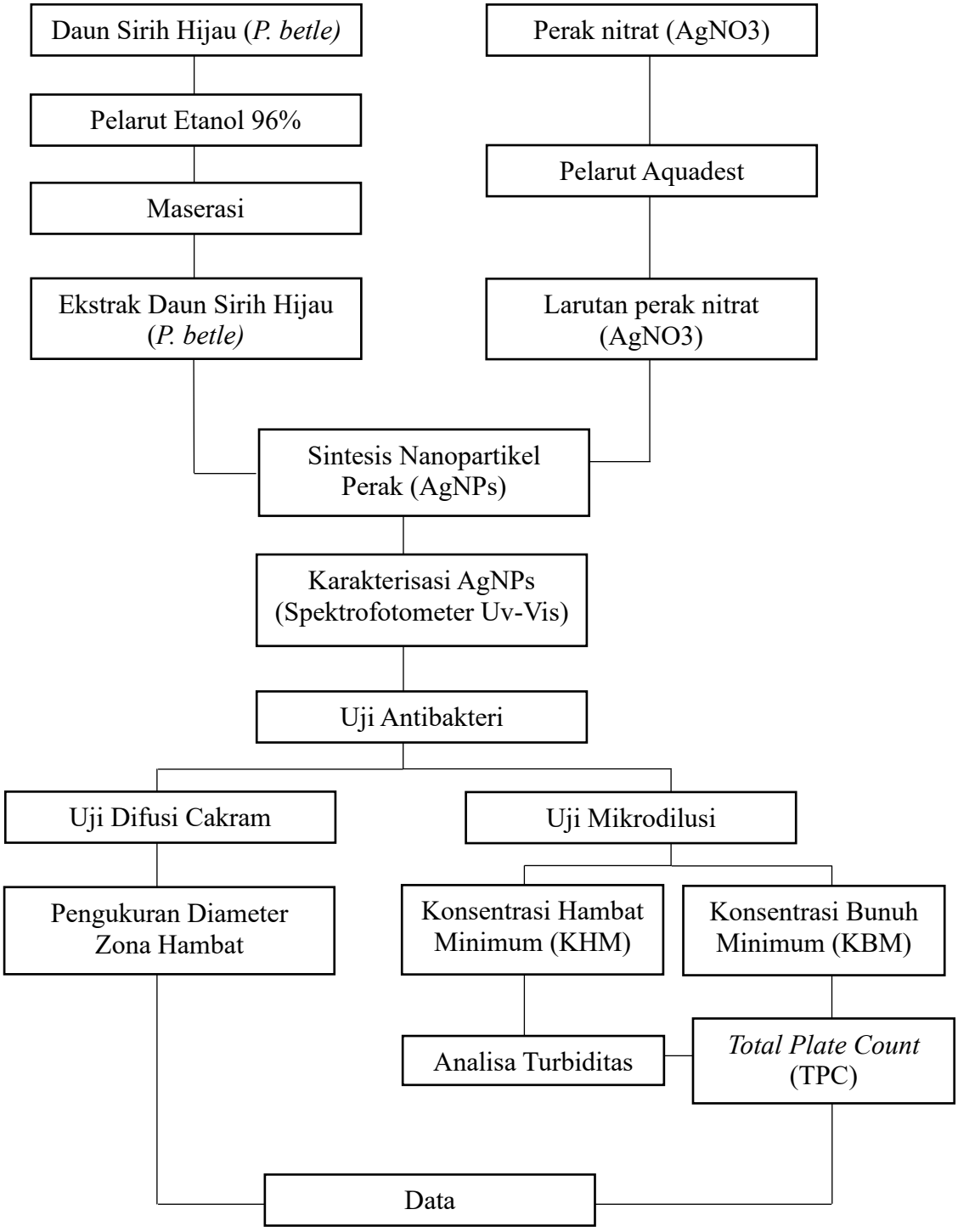
Yuka, R.A., Setyawan, A., & Supono. 2021. Identifikasi Bakteri Bioremediasi Pendegradasi Total Ammonia Nitrogen (TAN). *Jurnal Kelautan*. 14(1).

Yulianingtyas, A., & Kusmartono, B. 2016. Optimasi Volume Pelarut Dan Waktu Maserasi Pengambilan Flavonoid Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Teknik Kimia.* 10(2): 58-64.

Yuwono. 2012. *Staphylococcus aureus dan Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA).* Palembang: Departemen Mikrobiologi FK Unsri.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur penelitian



Lampiran 2. Nilai Panjang Gelombang dan Absorbansi Nanopartikel Perak (AgNPs), Larutan Perak Nitrat (AgNO3), dan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*P. betle)* dengan Spektrofotometer Uv-vis

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi		
	AgNPs	AgNO3	Ekstrak Daun *P. betle*
300	0,482	0,350	3,463
320	0,764	0,400	3,408
340	1,231	0,500	3,204
360	1,837	0,504	3,666
380	2,635	0,489	2,470
400	3,426	0,474	0,953
420	4,013	0,461	0,569
440	4,189	0,445	0,469
460	4,248	0,425	0,417
480	3,899	0,405	0,379
500	3,458	0,386	0,349
520	3,069	0,37	0,328
540	2,741	0,356	0,312
560	2,426	0,342	0,299
580	2,016	0,333	0,286
600	1,622	0,320	0,276
620	1,288	0,309	0,271
640	1,015	0,303	0,262
660	0,812	0,292	0,257
680	0,658	0,284	0,252
700	0,549	0,276	0,250
720	0,464	0,269	0,248
740	0,405	0,268	0,243
760	0,364	0,254	0,241
780	0,326	0,255	0,235
800	0,300	0,248	0,232

Lampiran 3. Diameter Zona Hambat

No	Perlakuan	Spesies	Ulangan			Rata-Rata	Kategori Daya Hambat
			U1	U2	U3		
1.	AgNPs 25 µg/ml	*S. aureus*	8,45	9,68	10,07	9,40	Sedang
		P. aeruginosa	10,39	11,17	11,96	11,17	Kuat
2.	AgNPs 50 µg/ml	*S. aureus*	9,24	10,28	11,08	10,20	Kuat
		P. aeruginosa	11,28	12,08	12,9	12,08	Kuat
3.	AgNPs 75 µg/ml	*S. aureus*	9,89	11,97	11	10,95	Kuat
		P. aeruginosa	12,16	12,93	13,35	12,81	Kuat
4.	AgNPs 100 µg/ml	*S. aureus*	10,65	11,94	12,56	11,71	Kuat
		P. aeruginosa	13,48	12,83	14,05	13,45	Kuat
5.	AgNPs 125 µg/ml	*S. aureus*	11,67	12,62	13,51	12,6	Kuat
		P. aeruginosa	13,51	14,91	14,2	14,2	Kuat
6.	Kontrol Positif (Levofloxacin)	*S. aureus*	38	33,75	35,75	35,83	Sangat kuat
		P. aeruginosa	35,8	40,7	44,54	40,35	Sangat kuat
7.	Kontrol Negatif (DMSO)	*S. aureus*	0	0	0	0	Lemah
		P. aeruginosa	0	0	0	0	Lemah

Lampiran 4. Analisis Statistika Diameter Zona Hambat menggunakan SPSS

4.1. Uji Normalitas (Shapiro-Wilk)

Staphylococcus aureus

Konsentrasi		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter	25 µg/ml	.296	3	.	.918	3	.444
	50 µg/ml	.201	3	.	.994	3	.856
	75 µg/ml	.185	3	.	.998	3	.926
	100 µg/ml	.257	3	.	.961	3	.618
	125 µg/ml	.177	3	.	1.000	3	.964
	Kontrol Positif (Levofloxacin)	.182	3	.	.999	3	.935

a. Lilliefors Significance Correction

b. Diameter is constant when Konsentrasi = Kontrol Negatif. It has been omitted

Pseudomonas aeruginosa

Konsentrasi		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter	25 µg/ml	.175	3	.	1.000	3	.993
	50 µg/ml	.176	3	.	1.000	3	.986
	75 µg/ml	.243	3	.	.972	3	.679
	100 µg/ml	.184	3	.	.999	3	.928
	125 µg/ml	.176	3	.	1.000	3	.984
	Kontrol Positif (Levofloxacin)	.199	3	.	.995	3	.866

a. Lilliefors Significance Correction

b. Diameter is constant when Konsentrasi = Kontrol Negatif (DMSO). It has been omitted.

4.2. Uji Homogenitas (Levene Test)

Staphylococcus aureus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.460	6	14	.261

Pseudomonas aeruginosa

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.660	5	12	.661

4.3. Uji One Way Anova

Staphylococcus aureus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2151.433	6	358.572	279.938	.000
Within Groups	17.933	14	1.281		
Total	2169.366	20			

Pseudomonas aeruginosa

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.646	5	.129	145.572	.000
Within Groups	.011	12	.001		
Total	.657	17			

4.4. Uji DMRT (Uji Duncan's Multiple Range Test)

Staphylococcus aureus

Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Kontrol Negatif	3	.0000				
25 µg/ml	3		9.4000			
50 µg/ml	3		10.2000	10.2000		
75 µg/ml	3		10.9533	10.9533	10.9533	
100 µg/ml	3			11.7167	11.7167	
125 µg/ml	3				12.6000	
Kontrol Positif (Levofloxacin)	3					35.8333
Sig.		1.000	.132	.141	.112	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Pseudomonas aeruginosa

Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Kontrol Negatif (DMSO)		.0000				
25 µg/ml	3		11.1733			
50 µg/ml	3		12.0867	12.0867		
75 µg/ml	3			12.8133	12.8133	
100 µg/ml	3			13.4533	13.4533	
125 µg/ml	3				14.2067	
Kontrol Positif (Levofloxacin)	3					40.3467
Sig.		1.000	.185	.091	.105	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

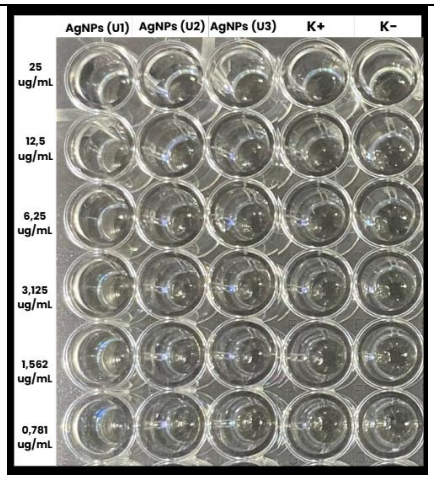
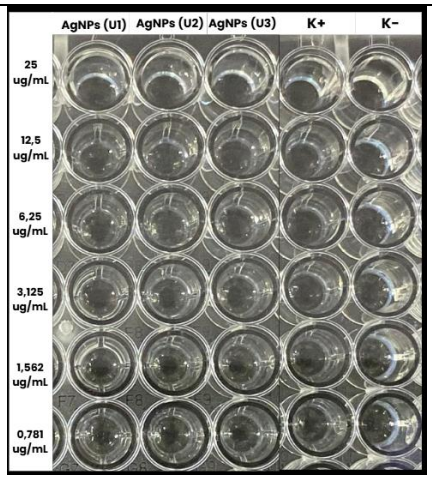
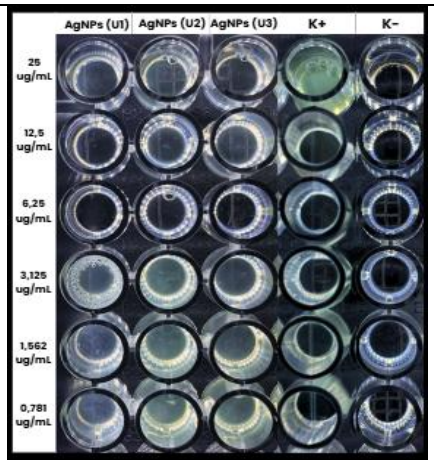
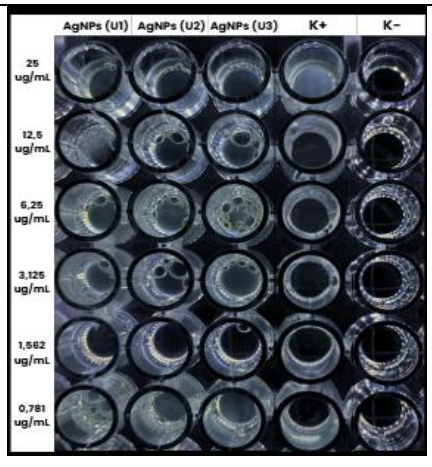
Lampiran 5. Hasil uji KHM (Konsentrasi Hambat Minimum)

5.1. Data uji KHM

Bakteri	Ulangan	Konsentrasi AgNPs							
		25 µg/ml	**12,5** µg/ml	**6,25** µg/ml	**3,125** µg/ml	**1,562** µg/ml	**0,781** µg/ml	**K+**	**K-**
S. aureus	**1**	-	-	-	+	+	+	+	-
	2	-	-	-	+	+	+	+	-
	3	-	-	-	+	+	+	+	-
P. aeruginosa	**1**	-	-	-	-	-	+	+	-
	2	-	-	-	-	-	+	+	-
	3	-	-	-	-	-	+	+	-

Keterangan: (-) : Jernih
(+): Keruh

5.2. Hasil uji KHM

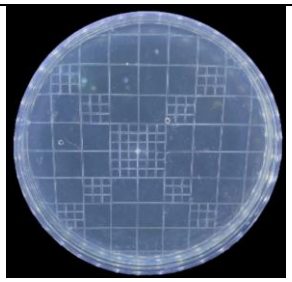
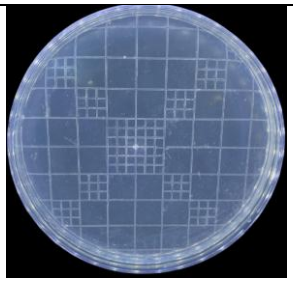
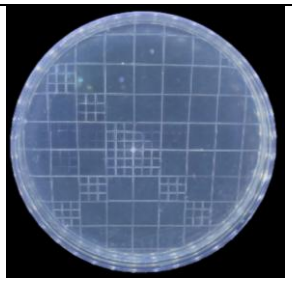
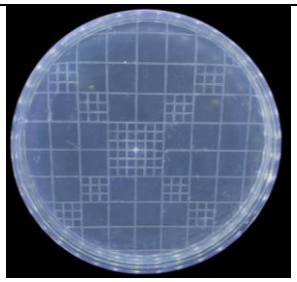
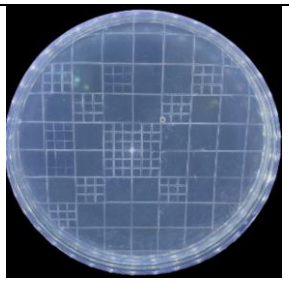
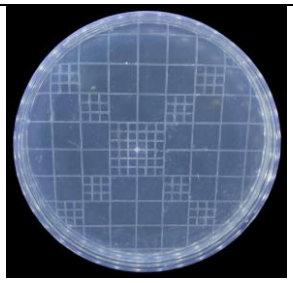
Perlakuan	Bakteri uji	
	S aureus	***P.aeruginosa***
Sebelum inkubasi		
Setelah inkubasi		

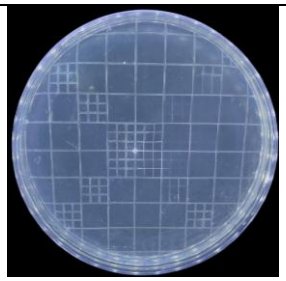
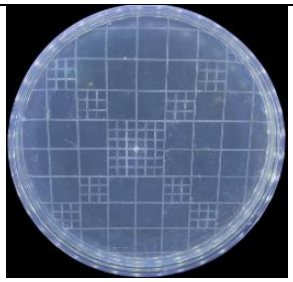
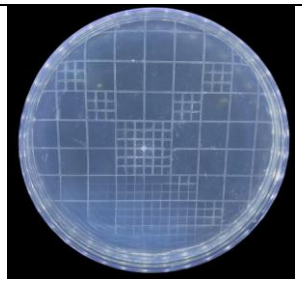
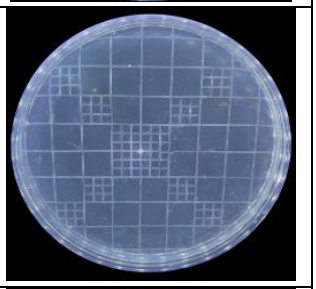
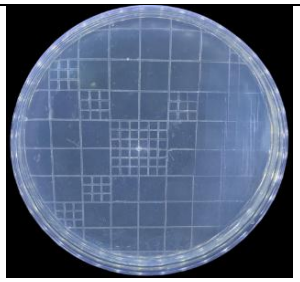
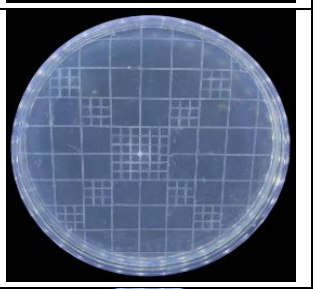
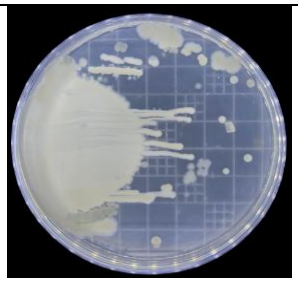
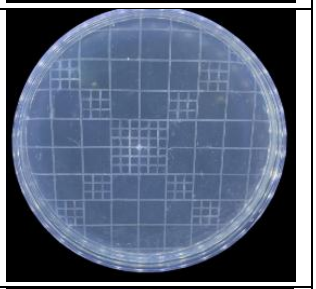
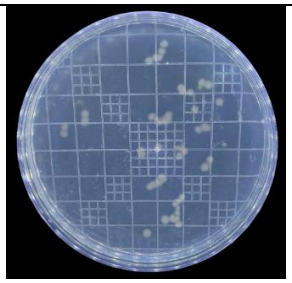
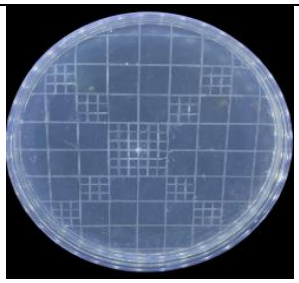
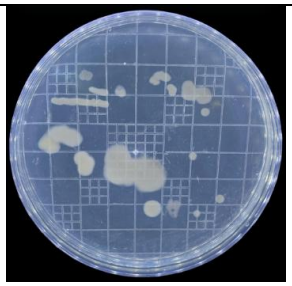
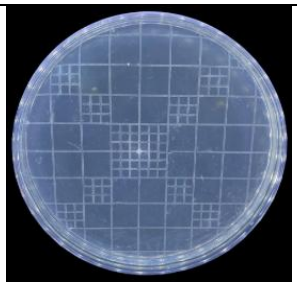
Lampiran 6. Hasil Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

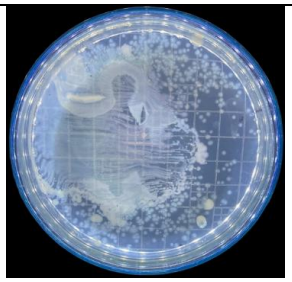
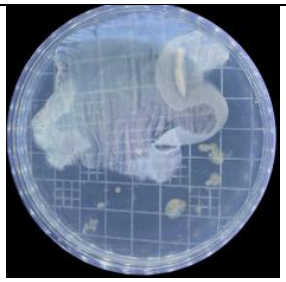
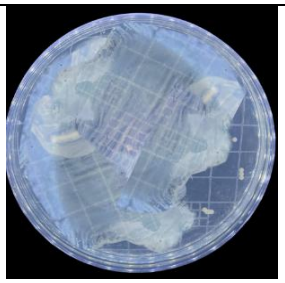
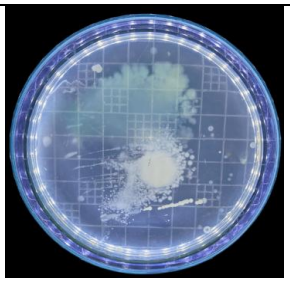
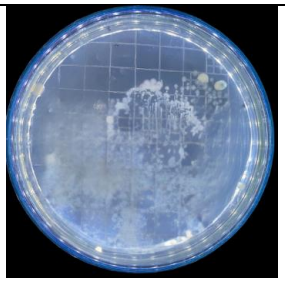
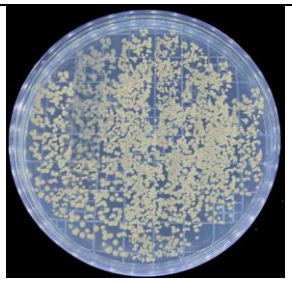
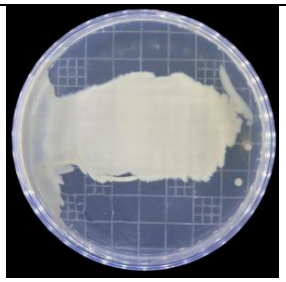
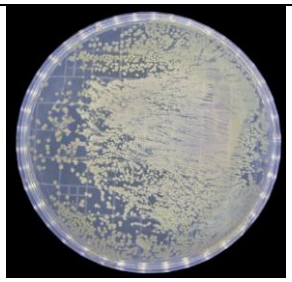
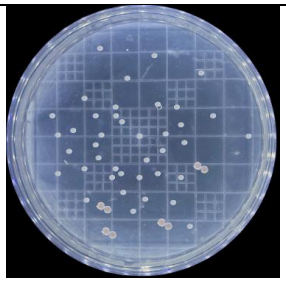
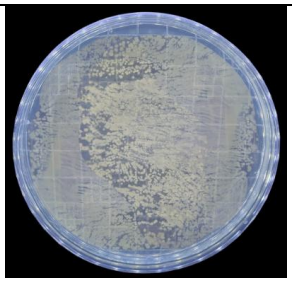
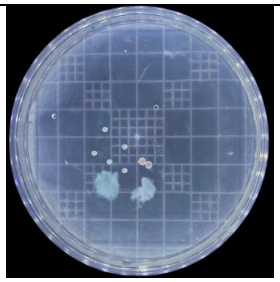
6.1. Data uji KBM

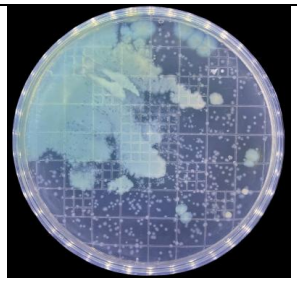
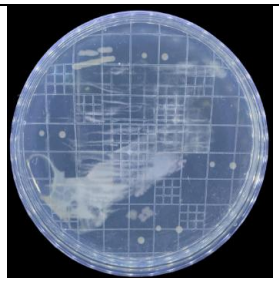
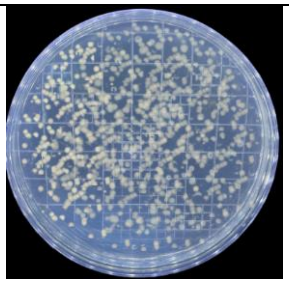
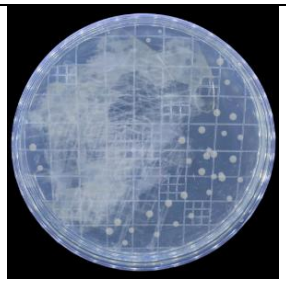
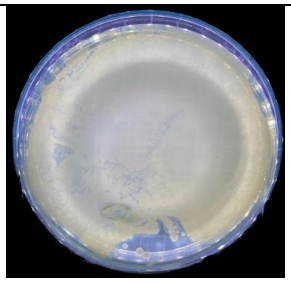
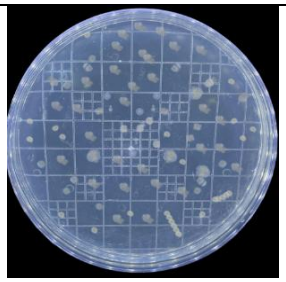
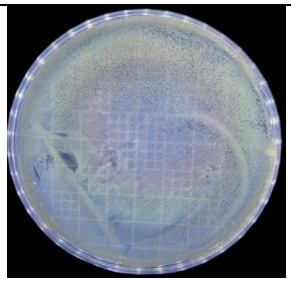
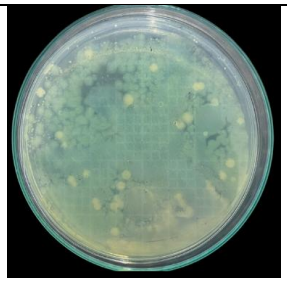
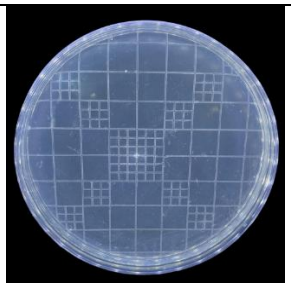
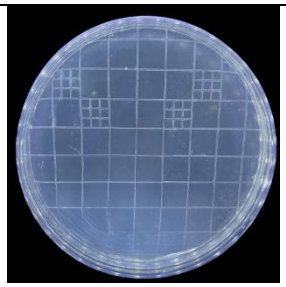
Bakteri	Ulangan	Konsentrasi AgNPs							
		25 µg/ml	**12,5** µg/ml	**6,25** µg/ml	**3,125** µg/ml	**1,562** µg/ml	**0,781** µg/ml	**K+**	**K-**
S. aureus	1	0	0	23	115	TBUD	TBUD	TBUD	0
	2	0	0	18	32	TBUD	TBUD		
	3	0	0	15	68	TBUD	TBUD		
P. aeruginosa	1	0	0	0	10	4	15	TBUD	0
	2	0	0	0	7	30	32		
	3	0	0	0	14	7	121		

6.2. Hasil dokumentasi KBM

Sampel uji	Ulangan	Bakteri	
		S. aureus	***P.aeruginosa***
AgNPs 25 µg/ml	**1**		
	2		
	3		

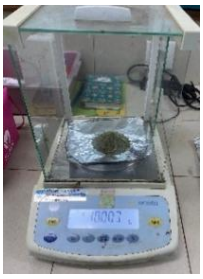
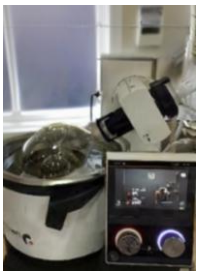
AgNPs 12,5µg/ml	**1**		
	2		
	3		
AgNPs 6,25 µg/ml	**1**		
	2		
	3		

AgNPs 3,125 µg/ml	**1**		
	2		
	3		
AgNPs 1,562 µg/ml	**1**		
	2		
	3		

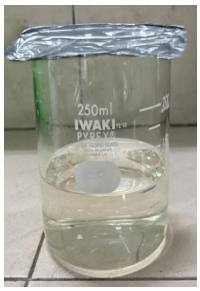
AgNPs 0,781 µg/ml	**1**		
	2		
	3		
Kontrol positif			
Kontrol negatif			

Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian

7.1. Proses Ekstraksi

Simplisia daun sirih hiijau	 Penimbangan simplisia daun sirih hijau	Pembuatan ekstrak dengan maserasi	Penyaringan ekstrak
 Pemekatan ekstrak dengan rotary evaporator	Ekstrak daun sirih hijau		

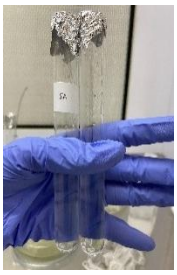
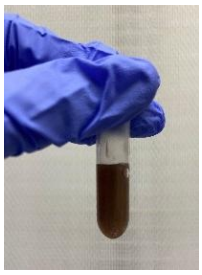
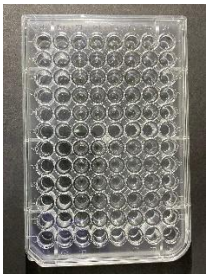
7.2. Proses sintesis

Penimbangan AgNo3	 Pembuatan larutan AgNo3	Sintesis Nanopartikel perak ekstrak daun sirih hijau	Karakterisasi AgNPs dengan spektrofotometer UV-vis

Penimbangan tube sebelum sentrifugasi	Sentrifugasi AgNPs	Pemisahan pelet dari supernatan	Penimbangan *tube* setelah di sentrifugasi
Pengeringan serbuk AgNPs dengan oven			

7.3. Uji Antibakteri

Penimbangan media	Pembuatan media uji	Isolat murni S. aureus dan P.aeruginosa	Permajaan bakteri di media agar

 Pembuatan suspensi bakteri	Pengukuran OD bakteri dengan spektrofotometer	Homogenisasi serbuk AgNPs dengan DMSO 5%	 Pembuatan larutan uji
Penimbangan serbuk antibiotik (larutan kontrol positif)	Kertas cakram steril	Perendaman kertas cakram dengan larutan uji	Inokulasi suspensi bakteri pada media agar
Penanaman kertas cakram pada media agar	Pengukuran diameter zona hambat	 Uji KHM	Uji KBM
Perhitungan jumlah koloni bakteri dengan *colony counter*			

KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: http://biologi.uin-malang.ac.id Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : Rofi'atul Abadia

NIM : 210602110113

Judul : Uji Antibakteri Nanopartikel Perak (AgNPs) Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri Penyebab Infeksi Piogenik Pada Kulit.

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si	14 %	
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc		

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi

Prof.Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

Dipindai dengan CamScanner

KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341)551354, Fax. (0341) 572533
Website: http://www.uin-malang.ac.id Email: info@uin-malang.ac.id

JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

IDENTITAS MAHASISWA

NIM	:	210602110113
Nama	:	ROFI`ATUL ABADIA
Fakultas	:	SAINS DAN TEKNOLOGI
Jurusan	:	BIOLOGI
Dosen Pembimbing 1	:	Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
Dosen Pembimbing 2	:	Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN,M.Ag
Judul Skripsi/Tesis/Disertasi	:	UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI NANOPARTIKEL PERAK (AgNPs) EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (Piper betle L.) TERHADAP BAKTERI PENYEBAB INFEKSI PIOGENIK PADA KULIT

IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	29 Agustus 2024	Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si	Konsultasi judul dan rancangan penelitian	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
2	17 September 2024	Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si	Bimbingan dan Revisi BAB I	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
3	29 September 2024	Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si	Bimbingan dan Revisi BAB I, II dan IIII	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
4	06 November 2024	Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si	Bimbingan dan Revisi BAB I, II, dan III	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
5	12 November 2024	Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN,M.Ag	Bimbingan dan ACC integrasi BAB I dan III	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
6	13 November 2024	Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si	ACC BAB I, II, dan III	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
7	17 April 2025	Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si	Bimbingan BAB IV	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
8	07 Mei 2025	Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si	Bimbingan BAB IV dan V	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
9	08 Mei 2025	Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN,M.Ag	Bimbingan Integrasi BAB IV	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
10	14 Mei 2025	Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN,M.Ag	ACC Integrasi BAB IV	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
11	20 Mei 2025	Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si	ACC Naskah Skripsi	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi

Telah disetujui
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Malang, _____

Dosen Pembimbing 2

Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN,M.Ag

Dosen Pembimbing 1

Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si

KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Ketua / Kaprodi,

Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P

Dipindai dengan CamScanner