

Optimasi dan Uji Antibakteri Nanonpartikel Perak dengan Bioreduktor Ekstrak Batang Anggrek Merpati (*Dendrobium crumenatum* Sw.)

Keiza Natania Panjaitan¹, Syamsurizal¹, Indri Maharini^{1*}, Diky Okta Yudha Putra¹, Prima Septiana¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Jambi, Jambi, Indonesia

*Corresponding author: Indri Maharini email: indri.maharini@unja.ac.id

Submitted: 13-02-2025

Revised: 22-02-2025

Accepted: 22-02-2025

DOI: 10.29408/sinteza.v5i1.29574

ABSTRACT

Silver nanoparticles have demonstrated significant antibacterial efficacy against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Silver nanoparticle synthesis can be done using a green synthesis method with plant extracts rich in flavonoids as bioreductor. The pigeon orchid (*Dendrobium crumenatum* Sw.) is a plant with potential as a bioreductant, especially its stem, rich in flavonoid compounds. Optimizing heating temperature, extract volume, and silver nitrate concentration is essential for producing silver nanoparticles with optimal properties and enhanced antibacterial activity. This research conducts optimization by varying the volume of pigeon orchid stem extract, heating temperature, and AgNO₃ solution concentration. The main parameter in the optimization is the Surface Plasmon Resonance (SPR) value. The characterization of silver nanoparticles includes particle size, polydispersity index, zeta potential, FTIR spectra, and antibacterial activity tests against *E. coli* and *S. aureus*. The research results show that the optimum conditions for synthesising silver nanoparticles are 1 mL of orchid stem extract, a heating temperature of 60°C, and an AgNO₃ concentration of 1.629 mM. The silver nanoparticles produced have characteristics with an SPR peak at 450 nm, a particle size of 98.267 nm, a polydispersity index of 0.2337, and a zeta potential of -21.9 mV. Antibacterial tests showed an inhibition zone of 14,71±1,23 mm against *S. aureus* and 15,28±0,91 mm against *E. coli*. These results prove that silver nanoparticles effectively inhibit the growth of gram-positive and gram-negative bacteria.

Keywords: Silver Nanoparticles, Antibacterial, Pigeon Orchid

PENDAHULUAN

Manusia sering kali terkena infeksi akibat bakteri patogen. Dua bakteri yang biasanya menginfeksi manusia yaitu *S. aureus* dan *E. coli* (Nabilla & Advinda, 2022). Untuk menanggulangi bakteri patogen tersebut diperlukan bahan terapeutik yang memiliki aktivitas antibakteri. Nanopartikel perak memiliki ukuran 1-100 nm, merupakan salah satu bahan yang memiliki potensi antibakteri (Nalawati et al., 2021). Nanoperak memiliki aktivitas antibakteri melalui beberapa mekanisme, seperti pelepasan ion Ag⁺ yang merusak membran sel bakteri, berinteraksi dengan dinding sel yang menyebabkan lisis, gangguan pada DNA dan protein yang menghambat pertumbuhan bakteri, serta produksi ROS yang memicu stres oksidatif. Mekanisme ini menjadikan nanoperak efektif terhadap berbagai bakteri, termasuk yang resisten terhadap antibiotik (Lestari & Cahyaningrum, 2022; More et al., 2023). Umumnya pemilihan sediaan nanopartikel perak sebagai antibakteri disesuaikan dengan area aplikasi dan target mikroorganisme. Krim, gel, dan spray umum digunakan untuk kulit, sementara larutan atau suspensi cocok sebagai antiseptik atau tetes mata. Nanofiber dan film efektif untuk perawatan luka, sedangkan dalam bidang medis, pelapis peralatan berbasis AgNPs digunakan untuk mencegah infeksi nosocomial (Chen & Schluesener, 2008; Edityaningrum et al., 2022).

Nanopartikel perak disintesis dengan metode kimia dan *green synthesis*. Metode *green synthesis* menawarkan berbagai keuntungan, seperti ramah lingkungan,



Sinteza is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC-BY License\)](#)

biokompatibel, serta lebih efisien dan ekonomis. Proses ini memanfaatkan bahan alami sebagai reduktor sekaligus penstabil, mendukung produksi yang berkelanjutan tanpa dampak negatif terhadap lingkungan (Maharini et al., 2023). Metabolit sekunder pada tanaman seperti flavonoid, alkaloid, fenol, polifenol, terpenoid, saponin, tanin, serta protein, dan enzim berperan sebagai bioreduktor dalam *green synthesis* nanopartikel (Dwiastuti et al., 2022).

Pemanfaatan bioreduktor dari bahan alam dalam proses sintesis nanopartikel perak sudah banyak diteliti, diantaranya ekstrak kulit buah *Annona muricata L* (Asworo et al., 2023), ekstrak daun *Boehmeria nivea* (Handoko V et al., 2022), ekstrak daun *Tristaniopsis merguensis* (Fabiani et al., 2019), ekstrak daun *Plantago major L* (Dewi et al., 2019), ekstrak daun *Syzygium polyanthum* (Taba et al., 2019) dan dengan ekstrak batang *Musa Paradisiaca* (Agustiarini & Permata Wijaya, 2021). Anggrek mengandung berbagai metabolit sekunder, termasuk flavonoid, tanin, saponin, terpenoid, dan lainnya (Choudhary & Kumar, 2025). Salah satu jenis anggrek yang banyak dimanfaatkan sebagai tanaman herbal adalah anggrek merpati (*Dendrobium crumenatum Sw.*). Anggrek merpati dapat berfungsi sebagai antiterapeutik, antioksidan, antiaging, dan antimikroba. Batang anggrek merpati mengandung alkaloid dan flavonoid yang dapat berfungsi sebagai bioreduktor dalam sintesis nanopartikel perak dengan cara mereduksi ion Ag^+ menjadi Ag^0 (Sandrasagar et al., 2014).

Faktor yang dapat mempengaruhi proses sintesis nanopartikel perak adalah suhu pemanasan, volume sampel dan konsentrasi larutan perak nitrat. Ketiga faktor tersebut dapat membantu proses reduksi perak oleh bioreduktor dan mempengaruhi karakteristik nanopartikel perak yang dihasilkan (Purnamasari et al., 2021). Oleh karena itu, dibutuhkan optimasi terhadap volume ekstrak, suhu pemanasan dan konsentrasi larutan perak nitrat pada proses pembuatan nanopartikel perak agar mendapatkan karakteristik nanopartikel perak serta efek antibakterinya sesuai yang diharapkan. Penelitian ini bertujuan untuk optimasi proses sintesis nanopartikel perak dengan menggunakan ekstrak air batang anggrek merpati sebagai bioreduktor. Sintesis nanopartikel perak menggunakan batang anggrek merpati belum pernah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk optimasi suhu pemanasan, konsentrasi larutan perak nitrat dan volume ekstrak dalam proses *green synthesis* nanopartikel perak menggunakan *Box-Behnken design*.

METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Aqua DM (Waterone), Batang anggrek merpati (*D. crumenatum Sw.*), AgNO_3 , bakteri uji *E. coli* ATCC 25922 dan *S. aureus* ATCC 29213, dan produk nanopartikel perak komersil sebagai kontrol positif. Alat yang digunakan adalah cawan petri, *hot plate* (Thermo®), kertas saring (Whatmann No. 41), bunsen, autoklaf, inkubator, LAF (*Laminar Air Flow*), *cotton swab*, jangka sorong, Spektrofotometer UV-Vis (Genesys 50), Fourier Transform Infra Red (Perkin Elmer), Particle Size Analyzer (Horiba Scientific SZ-100).

Jalannya Penelitian

Determinasi Tanaman

Determinasi dan identifikasi sampel batang anggrek merpati (*D. crumenatum Sw.*) dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Departemen Biologi FMIPA, Universitas Padjadjaran.

Pembuatan Simplisia Batang Anggrek Merpati

Simplisia batang anggrek merpati (*Dendrobium crumenatum Sw.*) dibuat dengan melakukan sortasi basah dan dicuci dengan air mengalir. Batang yang telah bersih dirajang dengan ukuran 2-3 cm untuk mempercepat pengeringan dan mengurangi kadar air. Batang anggrek merpati kemudian dikeringkan selama 2 hari dengan suhu 60°C hingga simplisia benar-benar kering. Proses pengeringan ini merupakan tahapan penting karena lamanya

pengeringan akan mempengaruhi senyawa bioaktif dalam tanaman. Setelah mendapatkan simplisia kering kemudian simplisia dihaluskan sehingga didapatkan serbuk simplisia (Pradito et al., 2022).

Pembuatan Ekstrak Air Batang Anggrek Merpati

Serbuk batang anggrek yang diperoleh kemudian ditimbang 10 gram lalu dipanaskan dengan 100 mL aqua demineralisasi dalam gelas beaker 150 mL pada suhu 90°C selama 15 menit. Selanjutnya, air rebusan disaring menggunakan kertas saring Whatmann No. 41. Ekstrak air batang anggrek merpati yang diperoleh dapat langsung digunakan dalam sintesis nanopartikel perak dan jika tidak digunakan langsung dapat disimpan pada suhu 4°C.

Pembuatan Larutan AgNO₃

Untuk membuat larutan AgNO₃ dengan konsentrasi 2 mM, 0,085 gram serbuk AgNO₃ dicampurkan dalam aqua demineralisasi hingga volume 250 mL. Kemudian, pembuatan larutan AgNO₃ dengan konsentrasi 1 mM dan 1,5 mM, diambil sebanyak 37,5 mL dan 25 mL dari larutan AgNO₃ 2 dan dipindahkan ke dalam labu ukur 50 mL, selanjutnya tambahkan aqua demineralisasi hingga tanda batas (Asworo et al., 2023).

Optimasi Nanopartikel Perak

Optimasi dilakukan menggunakan desain eksperimental metode *Box-behnken Design* (BBD). Optimasi dilakukan terhadap volume ekstrak, suhu pemanasan dan konsentrasi larutan AgNO₃ yang digunakan. Dalam optimasi ini dilakukan variasi pada proses sintesis nanopartikel perak dengan volume ekstrak air batang anggrek merpati (1-6 mL), suhu pemanasan (60-80°C) dan konsentrasi AgNO₃ (1-2 mM). Waktu yang digunakan dalam proses ini dibuat sama untuk semua formula yaitu selama 1 jam 30 menit. Parameter yang digunakan dalam optimasi nanopartikel perak adalah SPR (*Surface Plasmon Resonance*) UV-Vis setiap formula. Rancangan percobaan yang direkomendasikan BBD terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Desain Optimasi Formula Menggunakan *Box-Behnken Design*

No	Run	Volume ekstrak (mL) (X ₁)	Suhu pemanasan (°C) (X ₂)	Konsentrasi AgNO ₃ (mM) (X ₃)
1	11	1	60	1.5
2	2	6	60	1.5
3	10	1	80	1.5
4	5	6	80	1.5
5	6	1	70	1
6	14	6	70	1
7	12	1	70	2
8	3	6	70	2
9	4	3.5	60	1
10	9	3.5	80	1
11	13	3.5	60	2
12	1	3.5	80	2
13	15	3.5	70	1.5
14	8	3.5	70	1.5
15	7	3.5	70	1.5

Keterangan: Larutan AgNO₃ setiap konsentrasi digunakan sebanyak 30 mL

Karakterisasi Nanopartikel Perak

Analisis *Surface Plasmon Resonance*

Analisis dilakukan pada ekstrak air batang anggrek merpati, larutan AgNO_3 dan larutan nanopartikel perak menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Analisis dilakukan dengan cara mengencerkan terlebih dahulu 1 mL larutan nanopartikel perak yang telah disintesis menggunakan aqua demineralisasi sampai 10 mL. Selanjutnya, larutan di *scanning* dengan panjang gelombang 200-800 nm, adanya puncak gelombang SPR dalam rentang 400-500 nm menunjukkan pembentukan nanopartikel perak (Bere et al., 2019).

Analisis Ukuran partikel, indeks polidispersitas dan Zeta potensial

Nanopartikel perak dikarakterisasi menggunakan PSA (Particle Size Analyzer) untuk mengukur ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan nilai zeta potensial. Penentuan dilakukan dengan menambahkan 10 mL akuabides pada 15 mL nanopartikel perak dari formula terpilih, kemudian dipipet ke dalam cell 2 cm. Pengukuran dengan PSA dilakukan sebanyak 3 kali (Bere et al., 2019). Nanopartikel perak dapat dikatakan stabil jika memiliki nilai zeta potensial $< -30 \text{ mV}$ atau $> +30 \text{ mV}$. (Edityaningrum et al., 2022) dan memiliki tingkat keseragaman ukuran partikel yang tinggi apabila nilai indeks polidispersias mendekati nol (Maharini et al., 2023).

Uji karakterisasi profil *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR) nanopartikel perak

Gugus fungsi nanopartikel perak formula terpilih dianalisis menggunakan FTIR, pengujian dilakukan dengan diukur serapan nanopartikel perak tersebut pada bilangan gelombang 500-4000 cm^{-1} .

Sterilisasi Alat

Proses sterilisasi dimulai dari mencuci bersih alat yang akan digunakan dalam uji aktivitas antibakteri dan dikeringkan. Kemudian menggunakan kertas perkamen untuk membungkus alat dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 30 menit. Sedangkan untuk mensterilkan peralatan seperti ose, pinset dan batang L dilakukan dengan cara direndam dalam alkohol 70% kemudian menggunakan api bunsen untuk dipijarkan alat tersebut (Masykuroh et al., 2024).

Pembuatan Media Nutrient Agar

Nutrient Agar (NA) ditimbang sebanyak 2,8 gram dan dimasukkan pada 100 mL aquades dalam erlenmeyer. Media dipanaskan hingga homogen menggunakan *hot plate*, kemudian disterilisasi dengan waktu 15 menit pada suhu 121°C menggunakan autoklaf. Selanjutnya, media yang telah steril dituang 25 mL pada cawan petri dan tunggu hingga memadat (Arfi & Taufikurohmah, 2017).

Peremajaan Kultur Bakteri

Kawat ose steril digunakan untuk mengambil koloni bakteri uji *E.coli* dan *S.aureus*. Koloni bakteri dioleskan pada media NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam (Fitriyah & Cahyaningrum, 2023).

Penyediaan Suspensi Bakteri

Suspensi bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli* dibuat dengan cara, diambil koloni dari media *Nutrient agar* menggunakan kawat ose yang telah disterilkan ke dalam tabung reaksi berisi NaCl 0,9% sebanyak 9 mL. Kekeruhan yang terbentuk selanjutnya distandarisasi dengan larutan 0,5 McFarland ($\pm 1,5 \times 10^8 \text{ CFU/mL}$). Selanjutnya, suspensi bakteri yang sudah dibuat harus digunakan dalam waktu 15 menit (Astuti et al., 2024).

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode sumuran di dalam Laminar Air Flow (LAF). Pengujian dilakukan dengan menanamkan 0,1 mL suspensi bakteri ke dalam 100 mL media NA yang telah disterilkan. Selanjutnya, 20 mL media NA dituangkan ke dalam cawan petri dan diratakan, lalu dibiarkan hingga memadat. Setelah menjadi padat, media

NA dibagi dalam 4 area dan dibuat sumuran pada masing-masing area dengan diameter 6 mm (Sumiati et al., 2018). Untuk area A, 100 µL formula optimal nanopartikel perak dimasukkan di lubang sumuran. Pada area B, larutan AgNO₃ formula optimal sebagai larutan pembanding, sedangkan pada area C dimasukkan larutan akuades steril sebagai kontrol negatif dan pada area D larutan yang dimasukkan yaitu produk nanopartikel perak komersil sebagai kontrol positif. Selanjutnya cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antibakteri ditandai dengan adanya area bening di sekitar kertas cakram yang diukur diameternya dengan jangka sorong (Putro et al., 2022).

Penentuan Formula Optimal

Formula optimal pada penelitian ini ditentukan dengan mempertimbangkan variable bebas (volume ekstrak, suhu pemanasan, konsentrasi larutan AgNO₃) dan variabel terikat yaitu nilai puncak SPR. Dari masing-masing variabel bebas dan terikat tersebut ditetapkan batas bawah dan atas untuk menentukan formula optimum oleh BBD. Adapun kriteria respons untuk mendapatkan formula optimal dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kriteria Formula Optimal

	Batas Bawah	Batas Atas	Target	Importance
Volume Ekstrak	1	6	In range	+++
Suhu Pemanasan	60	80	In range	+++
Konsentrasi AgNO ₃	1	2	In range	+++
SPR	418	454	Maximise	+++

Analisis Data

Analisis data hasil uji FTIR, ukuran partikel, indeks polidispersitas dan zeta potensial dilakukan secara deskriptif. Sedangkan untuk formula optimal dilakukan verifikasi dengan membandingkan respons prediksi dari software desain eksperimental terhadap respons aktual menggunakan *one sample T-Test* untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan signifikan dengan taraf signifikansi 95%. Data dikatakan berbeda signifikan apabila *p*<0,05 dan data dikatakan tidak berbeda signifikan apabila *p*>0,05.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Determinasi Tanaman

Berdasarkan hasil determinasi yang dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Departemen Biologi FMIPA, Universitas Padjadjaran (No. 127/HB/11/2024) didapatkan hasil bahwa tanaman yang digunakan adalah anggrek merpati (*D. crumenatum* Sw.)

Pembuatan Simplisia Batang Anggrek Merpati

Perhitungan rendemen simplisia batang anggrek merpati dengan melakukan perbandingan berat simplisia kering dengan berat simplisia awal yang tertera pada Tabel 3, sehingga didapatkan rendemen simplisia sebesar 16,348%. Nilai rendemen simplisia yang didapatkan ini telah memenuhi standar rendemen yang baik yaitu lebih dari 10%, dimana semakin besar nilai rendemen maka semakin banyak kandungan zat yang dapat ditarik dari bahan baku (Kalalo et al., 2024).

Tabel 3. Rendemen Simplisia

Sampel	Berat simplisia awal	Berat simplisia kering	Rendemen simplisia
Simplisia batang anggrek merpati (<i>D. crumenatum</i> Sw.)	480,8 g	78,6 g	16,348%

Ekstraksi Batang Anggrek Merpati

Ekstraksi dilakukan secara infudansi yaitu memanaskan sampel dalam pelarut pada suhu 90°C selama 15 menit (Peloan & Kaempe, 2020). Hasil ekstraksi didapatkan esktrak batang anggrek merpati berwarna coklat.

Sintesis Nanopartikel Perak

Sintesis nanopartikel perak dilakukan sesuai dengan setiap formula yang direkomendasikan BBD. Proses sintesis ini dilakukan pengadukan konstan menggunakan *magnetic stirrer* dengan ekstrak air batang anggrek dilarutkan dalam 30 mL larutan AgNO₃. Salah satu karakterisasi terbentuknya nanopartikel perak adalah perubahan warna yang terjadi selama proses sintesis. Setiap formulasi mengalami perubahan warna pada menit ke-45 dan tidak mengalami perubahan warna setelah 1 jam 30 menit.

Optimasi Nanopartikel Perak

Hasil nilai puncak *surface plasmon resonance* (SPR) setiap formula tertera dalam Tabel 4, hasil nilai puncak SPR tersebut berada dalam rentang karakteristik yang khas dari nanopartikel perak.

Tabel 4. Hasil Panjang Gelombang Maksimal SPR Nanopartikel Perak

No	Run	Volume ekstrak (mL) (X ₁)	Suhu pemanasan (°C) (X ₂)	Konsentrasi AgNO ₃ (mM) (X ₃)	SPR (nm)
1	11	1	60	1.5	452
2	2	6	60	1.5	424
3	10	1	80	1.5	454
4	5	6	80	1.5	438
5	6	1	70	1	440
6	14	6	70	1	418
7	12	1	70	2	450
8	3	6	70	2	432
9	4	3.5	60	1	434
10	9	3.5	80	1	430
11	13	3.5	60	2	442
12	1	3.5	80	2	446
13	15	3.5	70	1.5	436
14	8	3.5	70	1.5	444
15	7	3.5	70	1.5	448

Dari hasil tersebut, BBD akan merekomendasikan model yang dapat menggambarkan pengaruh variable independen yaitu model yang memiliki nilai *p-value* model < 0,05 dan nilai *Lack of Fit* (LOF) > 0,05. Berdasarkan hasil pengujian, model kuadratik dapat digunakan dalam menganalisis hubungan variabel independen dan dependen (*p-value*= 0,0215 dan LOF=0,825). Pengaruh variabel independen terhadap puncak SPR nanopartikel perak menghasilkan persamaan sebagai berikut:

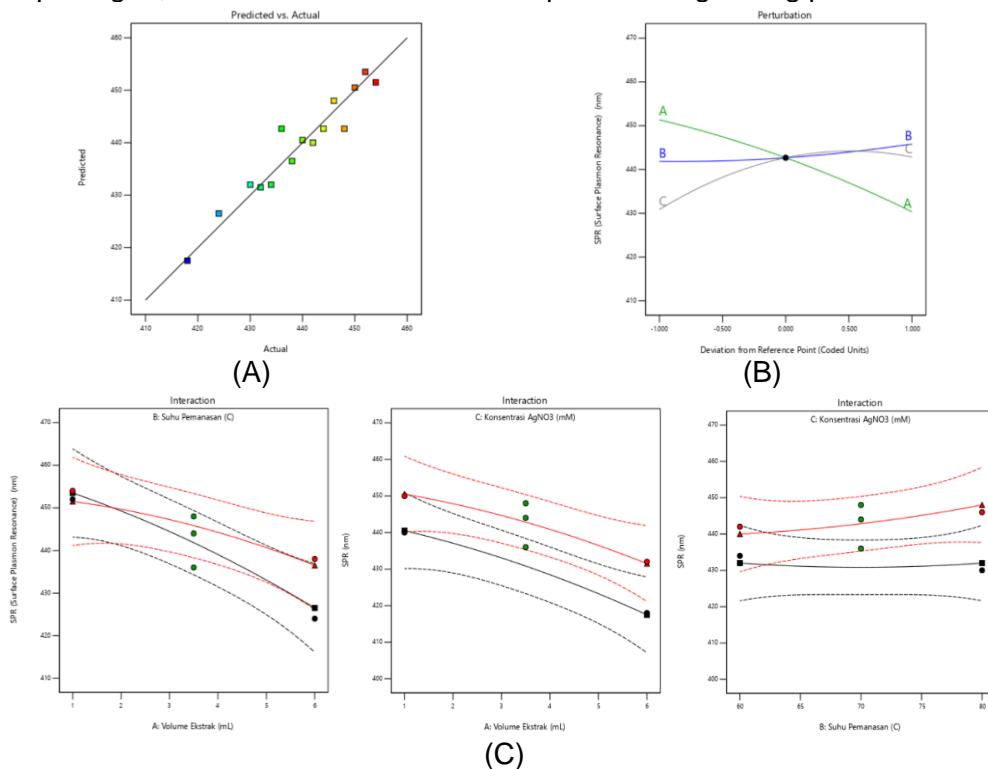
$$SPR = +442.67 - 10.50 * A + 2.00 * B + 6.00 * C + 3.00 * AB + 1.0000 * AC + 2.00 * BC - 1.83 * A^2 + 1.17 * B^2 - 5.83 * C^2 \dots \quad (1)$$

Keterangan: A = volume ekstrak; B = suhu pemanasan; C = konsentrasi AgNO_3

Dari persamaan 1 dapat dikatakan bahwa peningkatan puncak SPR dipengaruhi dengan peningkatan suhu pemanasan dan konsentrasi AgNO_3 , hal ini dapat dilihat dari nilai positif koefisien kedua faktor tersebut. Peningkatan suhu dapat menyebabkan puncak SPR bergeser ke panjang gelombang yang lebih pendek (*blue shift*) yang menunjukkan

penurunan ukuran partikel. Peningkatan konsentrasi AgNO_3 mempercepat pembentukan nanopartikel dan konsentrasi yang optimal mampu menghasilkan nanopartikel dengan ukuran seragam dan puncak SPR yang tajam (Irwan et al., 2016). Pengaruh Volume ekstrak menurunkan puncak SPR yaitu jika volume ekstrak terlalu besar mampu menggeser puncak SPR ke panjang gelombang yang lebih pendek (*blue shift*) dan dapat mengurangi intensitas absorbansi (Prasetyaningtyas et al., 2020).

Pada grafik prediksi vs aktual, terdapat titik-titik yang menyatakan korelasi erat hasil yang diprediksi dengan hasil yang diamati, yang menunjukkan efektivitas desain dalam mencapai prediksi yang akurat, semakin dekat titik pada garis maka hasil yang diprediksi semakin selaras dengan hasil aktual. Plot perturbasi pada Gambar 1 (B) menggambarkan hubungan antara faktor yang diuji dengan respons yang dihasilkan. Pada plot ini, sumbu x menunjukkan level faktor yang diuji dan sumbu y menunjukkan respons yang diukur. Hasil yang diamati dari plot ini adalah kemiringan garis dari titik referensi, dimana semakin menyimpang garis maka semakin besar pengaruh dari faktor uji tersebut. Pada plot interaksi antara faktor menggambarkan interaksi antara faktor A, faktor B dan faktor C terhadap respons. Garis rata-rata yang tidak parallel atau berpotongan pada plot interaksi menyiratkan adanya interaksi antara faktor. Dari Gambar 1 (C) dapat dilihat bahwa setiap garis berpotongan, ini menandakan bahwa setiap faktor bergantung pada faktor lainnya.



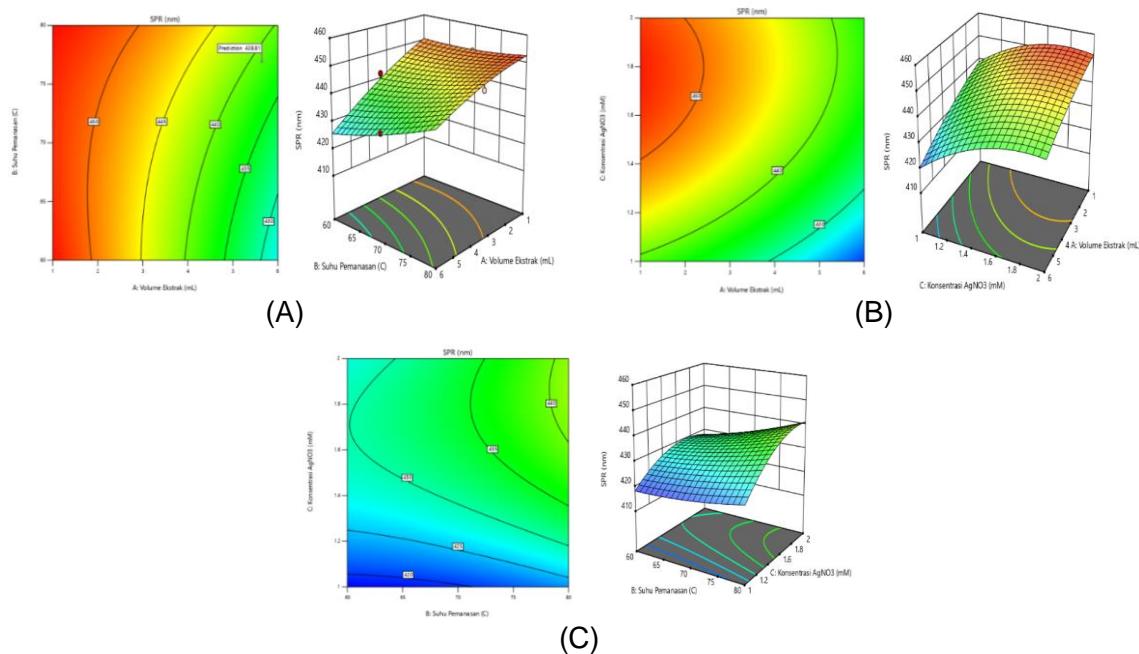
Gambar 1. Hubungan variabel independen. (A) Grafik Prediksi vs Aktual, (B) Plot Pertubasi, (C) Plot interaksi antar faktor terhadap respon

Tabel 5. Formula Optimum Prediksi Box-Behnken Design

Volume ekstrak (mL)	Suhu pemanasan (°C)	Konsentrasi AgNO ₃ (Mm)	SPR (nm)	Nilai Desirability
1	60	1,629	453,886	0,997

Formula optimal dipilih dengan nilai *desirability* yang paling mendekati nilai 1, satu formula yang dipilih kemudian diuji karakteristik dan verifikasi (P. D. Pratiwi & Arnas, 2024). Formula optimal didapatkan dengan volume ekstrak 1 mL, suhu pemanasan 60°C dan

konsentrasi AgNO_3 yang digunakan 1,629 dengan nilai puncak SPR yang diprediksi adalah 453,886. Hubungan faktor terhadap respons digambarkan dalam plot 2D dan 3D (Gambar 2), dimana hubungan faktor suhu pemanasan (b) dan volume ekstrak (a) terhadap respons yaitu puncak SPR dapat dilihat pada gambar 2D dan 3D dibawah, pada gambar tersebut dapat dilihat bahwa semakin kecil volume ekstrak maka semakin besar nilai puncak SPR. Hubungan faktor konsentrasi AgNO_3 (c) dan volume ekstrak (a) dapat disimpulkan bahwa semakin kecil ekstrak dan semakin besar konsentrasi AgNO_3 akan menghasilkan puncak SPR nanopartikel perak yang besar pula. Hubungan faktor konsentrasi AgNO_3 (c) dan suhu pemanasan (b) terhadap respon dapat disimpulkan bahwa semakin besar konsentrasi AgNO_3 maka semakin besar puncak SPR yang dihasilkan. Dari gambar hubungan kedua faktor ini terhadap respons, warna yang dihasilkan tidak sampai pada warna merah, hal ini menandakan bahwa hubungan kedua faktor ini tidak terlalu signifikan terhadap puncak SPR.



Gambar 2. Hubungan faktor terhadap respon. Gambar (A) Gambar hubungan faktor A dan B terhadap respon; Gambar (B) Gambar hubungan faktor A dan C terhadap respon; Gambar (C) Gambar hubungan faktor B dan C terhadap respon.

Uji Verifikasi

Tabel 6. Hasil Verifikasi dan *T-Test* Formula Optimal Nanopartikel Perak

Respons Uji	Hasil Uji			Rata-Rata \pm SD	Sig. (2-tailed)	Nilai Prediksi
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III			
SPR (nm)	452	448	450	450 \pm 2	0,78	453,886

Nilai $p < 0,05$ menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara hasil aktual dengan hasil prediksi *Box Behnken Design*, dan sebaliknya nilai $p > 0,05$ menandakan adanya tidak adanya perbedaan signifikan antara hasil aktual dengan hasil prediksi (L. Pratiwi, 2021). Dari Tabel 6 diatas menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna antara hasil aktual dengan hasil prediksi dimana nilai $p = 0,78 > 0,05$, sehingga dapat dikatakan tidak ada perbedaan signifikan antara nilai puncak SPR aktual dengan nilai puncak SPR yang diprediksi BBD.

Karakterisasi Formula Optimal Nanopartikel Perak

Setelah didapatkan formula optimal, dilakukan karakterisasi terhadap formula tersebut. Formula optimal dibuat dengan pengulangan atau replikasi sebanyak 3 (tiga) kali. Dalam hal ini dilakukan karakterisasi dengan Spektrofotometri UV-Vis dengan membandingkan antara formula optimal dan replikasinya terhadap AgNO_3 , Ekstrak Anggrek Merpati dan produk nanopartikel perak komersil pada rentang gelombang 200-800 nm.

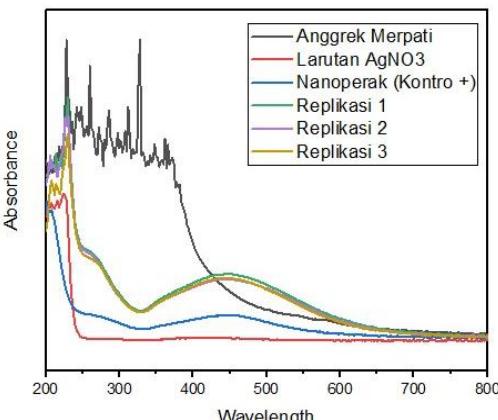
Hasil uji spektrofotometri UV-Vis pada setiap replikasi formula optimal nanopartikel perak menunjukkan nilai puncak *Surface Plasmon Resonance* (SPR) masing-masing sebesar 452 nm, 448 nm, dan 450 nm. Produk nanopartikel perak komersil yang digunakan sebagai kontrol positif memiliki puncak SPR pada gelombang 444 nm, nilai-nilai tersebut berada dalam rentang karakteristik puncak SPR nanopartikel perak, yaitu 400–500 nm. Berdasarkan Gambar 3, dapat diamati bahwa panjang gelombang maksimal dan absorbansi setiap replikasi formula optimal nanopartikel perak menunjukkan keseragaman yang tinggi. Hal ini mengindikasikan bahwa ukuran partikel pada setiap replikasi formula optimal nanopartikel perak relatif seragam. Dari bentuk puncak absorbansi atau SPR dapat diprediksi ukuran suatu partikel, dimana semakin tajam dan jelas puncak yang terbentuk maka semakin kecil ukuran partikel yang dihasilkan (Rakib-Uz-Zaman et al., 2022).

Hasil pengukuran ukuran partikel, indeks polidispersitas dan nilai zeta potensial formula optimum disajikan pada Tabel 7. Ukuran partikel formula optimum sebesar $98,267 \pm 0,577$ nm. Hal ini menunjukkan bahwa sintesis nanopartikel perak memenuhi syarat sebagai nanopartikel yakni ukuran partikel lebih kecil dari 1000 nm (Maharini et al., 2023). Hasil uji indeks polidispersitas menunjukkan nilai mendekati 0,01 yang berarti nanopartikel perak yang dibuat memiliki ukuran partikel yang seragam (Rohmahdana et al., 2024). Hasil pengujian zeta potensial sebesar $14,243 \pm 0,848$ mV. Nilai ini mengindikasikan adanya kemungkinan agregasi atau penggabungan antar partikel sehingga memungkinkan untuk ditambahkan *stabilizing agent*. Nilai zeta potensial yang menggambarkan stabilitas nanopartikel perak ± 30 mV. (Sumiati et al., 2018).

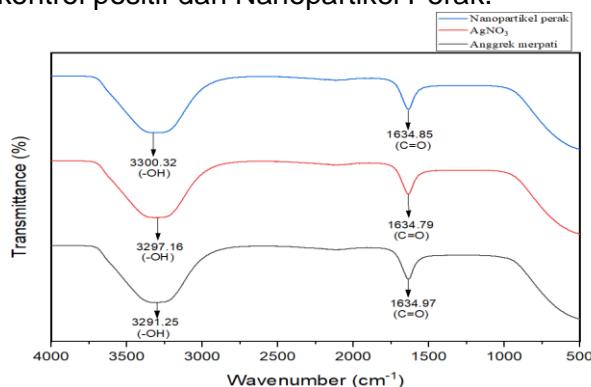
Karakterisasi spektra FTIR dilakukan menggunakan Spektrofotometri FT-IR untuk mengetahui gugus fungsi yang memiliki peran dalam proses reaksi reduksi ion perak (Ag^+). Pengukuran puncak serapan dilakukan pada ekstrak air batang Anggrek Merpati, larutan AgNO_3 dan nanopartikel perak (Gambar 4). Larutan AgNO_3 memiliki puncak serapan pada bilangan gelombang 3297 cm^{-1} yang merupakan ciri khas gugus -OH dan puncak serapan gugus C=O pada bilangan gelombang $1634,79\text{ cm}^{-1}$ (Payapo et al., 2016). Pada ekstrak air batang anggrek ditemukan serapan yang lebar dan panjang pada gelombang 3291 cm^{-1} yang teridentifikasi sebagai gugus -OH yang terdapat pada flavonoid, tanin, terpenoid, saponin dan polifenol. Selain itu, ditemukan gugus C=O yang teridentifikasi pada panjang gelombang $1634,97\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan gugus khas dari fenolik. Pada nanopartikel perak yang dibuat terjadi pergeseran yang terdeteksi pada gelombang 3300 cm^{-1} dan $1634,85\text{ cm}^{-1}$. Terjadinya pergeseran bilangan gelombang menunjukkan bahwa proses reduksi ion Ag^+ menjadi Ag^0 disebabkan oleh gugus -OH dan C=O (Adzani & Rini, 2020).

Tabel 7. Pengujian ukuran partikel, indeks polidispersitas, zeta potensial

Pengujian	Formula Optimal Nanopartikel Perak			Rata-rata±SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
Ukuran Partikel (nm)	97,6	98,6	98,6	$98,267 \pm 0,577$
Indeks Polidispersitas	0,221	0,252	0,228	$0,2337 \pm 0,0163$
Zeta Potensial (mV)	14,825	13,27	14,635	$14,243 \pm 0,848$



Gambar 3. Hasil Pengujian Spektrofotometri UV-Vis AgNO_3 , ekstrak Anggrek Merpati, nanoperak kontrol positif dan Nanopartikel Perak.



Gambar 4. Hasil Pengujian Spektrofotometri FT-IR AgNO_3 , Ekstrak Air Batang Anggrek Merpati, dan Nanopartikel Perak.

Pengujian Aktivitas Antibakteri Formula Optimal Nanopartikel Perak

Tabel 8. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri *S. aureus*

Spesimen	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata \pm SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
Kontrol positif	10,97	12,25	13,53	12,25 \pm 1,28
Kontrol negatif	0	0	0	0
Larutan AgNO_3	14,825	13,27	14,635	14,24 \pm 0,85
Nanopartikel perak	16,04	13,625	14,455	14,71 \pm 1,23

Tabel 9. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri *E. coli*

Spesimen	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata \pm SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
Kontrol positif	11,16	12,10	13,04	12,10 \pm 0,77
Kontrol negatif	0	0	0	0
Larutan AgNO_3	15,17	13,78	14,7	14,55 \pm 0,71
Nanopartikel perak	16,045	14,27	15,525	15,28 \pm 0,91

Keterangan: **Kontrol positif** (Produk Nanoperak Komersil); **Kontrol negative** (Aqua Steril); **Larutan AgNO_3** (larutan formula optimal); **Nanopartikel perak** (Formula Optimal Nanopartikel perak).

Hasil uji antibakteri menunjukkan terbentuknya zona hambat nanopartikel perak sebesar $14,71 \pm 1,23$ mm terhadap bakteri *S. Aureus* (Tabel 8). Sedangkan zona hambat terhadap bakteri *E. coli* sebesar $14,55 \pm 0,71$ mm (Tabel 9). Dalam hal ini, nanopartikel perak dikatakan memiliki aktivitas kuat karena berada pada rentang 10-20 mm (Fiana et al., 2020). Formula optimal nanopartikel perak yang disintesis memiliki daya hambat bakteri lebih baik dibandingkan produk nanopartikel perak komersil, hal ini dapat terjadi karena nanopartikel

yang disintesis telah dioptimasi sehingga memiliki karakteristik yang lebih baik dibandingkan produk nanopartikel perak komersil. Pada *aqua pro* injeksi merupakan air steril tanpa mikroba sehingga tidak menunjukkan penghambatan bakteri pada media uji.

Hasil analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan daya hambat bakteri di setiap kelompok yang diuji, namun tidak terdapat perbedaan signifikan dalam efektivitas daya hambat antara larutan AgNO_3 dan nanopartikel perak. Perbedaan ukuran partikel menyebabkan aktivitas antibakteri nanopartikel perak lebih kuat dibandingkan AgNO_3 . Selain itu, data menunjukkan bahwa nanopartikel perak menghasilkan zona hambat lebih besar terhadap *S. aureus* dibandingkan *E. coli*. Hal ini disebabkan oleh perbedaan struktur dinding sel, di mana *S. aureus* sebagai bakteri gram positif memiliki dinding yang lebih tebal dan kaya akan peptidoglikan, sehingga lebih sulit ditembus dibandingkan *E. coli*, yang merupakan bakteri gram negatif dengan dinding sel lebih tipis (Dhani et al., 2023).

KESIMPULAN

Hasil optimasi menggunakan metode *Box-Behnken* menunjukkan bahwa formula optimal dalam sintesis nanopartikel perak menggunakan ekstrak batang anggrek merpati sebagai bioreduktor diperoleh dengan volume infusa batang anggrek merpati sebesar 1 mL, pemanasan pada suhu 60°C, dan konsentrasi larutan AgNO_3 sebesar 1,629 mM. Uji aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* menunjukkan bahwa nanopartikel perak efektif menghambat bakteri gram positif dan negatif, dengan daya hambat yang kuat, ditunjukkan oleh rata-rata zona hambat terhadap *S. aureus* sebesar $14,71 \pm 1,23$ mm dan terhadap *E. coli* sebesar $15,28 \pm 0,91$ mm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Jambi, yang telah menyediakan fasilitas dan infrastruktur untuk mendukung penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adzani, H., & Rini, A. S. (2020). Sifat Optik Nanopartikel Perak (Ag-Nps) Menggunakan Bioreduktor Ekstrak Kulit Semangka Kuning. *Komunikasi Fisika Indonesia*, 17(2), 104. <https://doi.org/10.31258/jkfi.17.2.104-107>
- Agustiarini, V., & Permata Wijaya, D. (2021). Potensi batang pisang (*Musaparadisiaca*) sebagai bioreduktor dalam green sintesis Ag nanopartikel. *Jurnal Penelitian Sains*, 21(3), 163–167.
- Arfi, K., & Taufikurohmah, T. (2017). Pemanfaatan Nanosilver Sebagai Antibakteri dalam Sediaan Farmasi Krim Pelembab Mata. *UNESA Journal of Chemistry*, 6(1), 11–19.
- Astuti, T. A., Cahyaningrum, S. E., Kimia, J., Matematika, F., Alam, P., & Surabaya, U. N. (2024). *Indonesian Journal of Chemical Science Synthesis and Characterization of Chitosan-Nano silver- Aloe vera as Wound Gel Preparation and Antibacterial Activity Test of Staphylococcus aureus*. 13(1).
- Asworo, R. Y., Hanandayu Widwiastuti, W., & Widayanti, E. (2023). Sintesis Nanopartikel Perak menggunakan Ekstrak Kulit Sirsak sebagai Bioreduktor. *Indonesian Journal of Pharmaceutical (e-Journal)*, 3(3), 2775–3670. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i3.22310>
- Bere, M. L., Sibarani, J., & Manurung, M. (2019). Sintesis Nanopartikel Perak (NPAg) Menggunakan Ekstrak Air Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum Linn.*) Dan Aplikasinya Dalam Fotodegradasi Zat Warna Metilen Biru. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, 7(2), 155–164.
- Chen, X., & Schluesener, H. J. (2008). Nanosilver: A nanoproduct in medical application. *Toxicology Letters*, 176(1), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.10.004>

- Choudhary, K., & Kumar, J. (2025). Importance of Bioactive Secondary Metabolites in Orchids: A Review Journal of Chemical Health Risks. *Journal of Chemical Health Risks*, 14(2024), 2009–2025.
- Dewi, K. T. A., Kartini, Sukweenadhi, J., & Avanti, C. (2019). Karakter Fisik dan Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Perak Hasil Green Synthesis Menggunakan Ekstrak Air Daun Sendok (*Plantago major L.*). *Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(2), 69–81. <https://doi.org/10.7454/psr.v6i2.4220>
- Dhani, R., Roza, R. M., & Fitmawati. (2023). Antibacterial Activity of Bitter Drugs from Lingga Malay Ethnic in Riau Archipelago Against Bacterial Causing Skin and Diarrhea Diseases. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(1), 319–327. <https://doi.org/10.29303/jbt.v23i1.4430>
- Dwiastuti, R., Johannes, S., & Riswanto, F. D. O. (2022). Optimization of Nanosilver Synthesis Formula Using Bioreductor from Cassava Leaf Water Extract (*Manihot esculenta Crantz*): Application of Central Composite Design (CCD). *J.Chemom.Pharm.Anal*, 2(1), 164–178.
- Edityaningrum, C. A., Oktafiani, A. T., Widiyastuti, L., & Arimurni, D. A. (2022). Formulasi dan Evaluasi Gel Nanopartikel Perak. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 9(2), 123. <https://doi.org/10.24198/ijpst.v9i2.35343>
- Fabiani, V. A., Putri, M. A., Saputra, M. E., & Indriyani, D. P. (2019). Synthesis of Nano Silver using Bioreductor of *Tristaniopsis merguensis* Leaf Extracts and Its Antibacterial Activity Test. *JKPK (Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia)*, 4(3), 172. <https://doi.org/10.20961/jkpk.v4i3.34617>
- Fiana, F. M., Kiromah, N. Z. W., & Purwanti, E. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 10–20. <https://doi.org/10.23917/pharmacon.v0i0.10108>
- Fitriyah, L., & Cahyaningrum, S. E. (2023). Synthesis and Characterization of Gel Chitosan-Nanosilver-Extract of Pare Fruit (*Momordica Charantia*) as antibacteria against *Staphylococcus aureus*. *Indonesia Journal of Chemical Science*, 12(1), 81–93.
- Handoko V, Yusradinan A, Nursyahid A, Wandira, A., & Wulandari, A. P. (2022). Green Synthesis Nanopartikel Perak dengan Bioreduktor Ekstrak Daun Rami (*Boehmeria nivea*) melalui Iradiasi Microwave. *Chimica et Natura Acta*, 10(1), 15–21.
- Irwan, R., Zakir, M., & Budi, P. (2016). Pengaruh Konsentrasi AgNO₃ dan Suhu Sintesis terhadap Surface Plasmon Resonance (SPR) Nanopartikel Perak. *Indonesian Journal of Chemical Research*, 4(1), 356–361. <https://doi.org/10.30598/ijcr.2016.4-irw>
- Kalalo, W. M., Purwanjani, W., An, U., Purwodadi, N., & Tengah, J. (2024). Antibacterial Activity Test on Face Toner Preparations 70 % Ethanol Extract of Avocado Leaves (*Persea americana Mill*) Against *Staphylococcus Aureus* Bacteria. *Pratama Medika: Jurnal Kesehatan*, 3(1), 61–77.
- Lestari, N. R. D., & Cahyaningrum, S. E. (2022). Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite-Nanosilver as Anti Bacteria that Cause Dental Caries. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 11(1), 33–40. <https://doi.org/10.15294/ijcs.v11i1.51070>
- Maharini, I., Fitrianingsih, F., & Utami, D. T. (2023). Green synthesis nanosilver using dadap serep (*Erythrina Subumbrans* (Hassk.) Merr) stem extract Green. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 1, 255–259. <https://doi.org/10.36490/journal->

- jps.com.v6i5-si.410
- Masykuroh, A., Rahman, I. R., Hairunnisa, Meliadina, N. O., & Hardiani, P. F. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Gel Nanokoloid Perak Hasil Biosintesis Menggunakan Ekstrak Tanaman Keladi Sarawak *Alocasia macrorrhizos* (L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Bioma : Jurnal Biologi Makassar*, 9, 35–48.
- More, P. R., Pandit, S., Filippis, A. De, Franci, G., Mijakovic, I., & Galdiero, M. (2023). Silver Nanoparticles: Bactericidal and Mechanistic Approach against Drug Resistant Pathogens. *Microorganisms*, 11(2), 369. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020369>
- Nabilla, A., & Advinda, L. (2022). Antimicrobic Activities Of Solid Soap Against *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* Human Pathogen Bacteria. *Serambi Biologi*, 7(4), 306–310.
- Nalawati, A. N., Suyatma, N. E., & Wardhana, D. I. (2021). Sintesis Nanopartikel Perak (Npag) Dengan Bioreduktor Ekstrak Biji Jarak Pagar Dan Kajian Aktivitas Antibakterinya. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 32(1), 98–106. <https://doi.org/10.6066/jtip.2021.32.2.98>
- Payapo, I. A., Zakir, M., & Nunuk, H. S. (2016). *Sintesis Nanopartikel Perak Menggunakan Bioreduktor Ekstrak Daun Ketapang (Terminalia catappa) DAN POTENSINYA SEBAGAI TABIR SURYA*. 1–17.
- Peloan, T., & Kaempe, H. (2020). Pengaruh Lama Penyimpanan Ekstrak Daun Gedi Merah Ter- Hadap Kandungan Total Flafonoid. *Pharmacy Medical Journal*, 3(2), 64–69. <https://doi.org/10.31857/s0044467720030107>
- Pradito, S. A., Muthmainah, N., & Biworo, A. (2022). Perbandingan Aktivitas Antibakteri Sediaan Infus dan Sediaan Ekstrak Daun Sungkai (Peronema canescens Jack) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Homeostasis*, 5(1), 135. <https://doi.org/10.20527/ht.v5i1.5212>
- Prasetyaningtyas, T., Prasetya, A. T., & Widiarti, N. (2020). Sintesis Nanopartikel Perak Termodifikasi Kitosan dengan Bioreduktor Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum Basilicum* L.) dan Uji Aktivitasnya sebagai Antibakteri. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 9(1), 37–43. <https://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs/article/view/29927/15739>
- Pratiwi, L. (2021). Novel antimicrobial activities of self-nanoemulsifying drug delivery system ethyl acetate fraction from *Garcinia mangostana* L. peels against *Staphylococcus epidermidis*: Design, optimization, and in vitro studies. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 11(3), 162–171. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2021.110313>
- Pratiwi, P. D., & Arnas, D. L. (2024). Aplikasi Simplex Lattice Design untuk Optimasi Emulgator dalam Krim Minyak Atsiri Kulit Jeruk Manis. *Sinteza*, 4(2), 85–93. <https://doi.org/10.29408/sinteza.v4i2.26539>
- Purnamasari, G. A. P. P., Lestari, G. A. D., Cahyadi, K. D., Esati, N. K., & Suprihatin, I. E. (2021). Biosintesis Nanopartikel Perak Menggunakan Ekstrak Air Daun Cemmem (*Spondias pinnata* (L.f) Kurz.) Dan Aktivitasnya Sebbai Antibakteri . *Cakra Kimia (Indonesia E-Journal of Applied Chemistry)*, 9(2), 75–80.
- Putro, D. S., Ermawati, D. E., & Yugatama, A. (2022). Volume Variation of Sweet Orange (*Citrus sinensis*) Juice and Peel Extract Toward the Characteristic and Antibacterial Activity of Nanosilver. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 9(1), 31. <https://doi.org/10.24198/ijpst.v1i1.29870>

- Rakib-Uz-Zaman, S. M., Hoque, A. E., Muntasir, M. N., Mowna, S. A., Khanom, M. G., Jahan, S. S., Akter, N., R. Khan, M. A., Shuborna, N. S., Shams, S. M., & Khan, K. (2022). Biosynthesis of Silver Nanoparticles from Cymbopogon citratus Leaf Extract and Evaluation of Their Antimicrobial Properties. *Challenges*, 13(18), 1–17. <https://doi.org/10.3390/challe13010018>
- Rohmahdana, I. H., Maharini, I., Purba, E. N. B., & Salsabilah, I. (2024). Nanoparticles Formulated from Young Areca Nut Extract Utilizing Sodium Alginate as a Polymer and Calcium Chloride (CaCl₂). *Chempublish Journal*, 8(2), 101–108.
- Sandrasagaran, U. M., Subramaniam, S., & Murugaiyah, V. (2014). New perspective of dendrobium crumenatum orchid for antimicrobial activity against selected pathogenic bacteria. *Pakistan Journal of Botany*, 46(2), 719–724.
- Sumiati, T., Ratnasari, D., & Mutiani, D. D. (2018). Sintesis Nanopartikel Perak Menggunakan Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium Cepa L.*) Dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmamedika*, 3(1), 27–33.
- Taba, P., Parmitha, N. Y., & Kasim, S. (2019). Sintesis Nanopartikel Perak Menggunakan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Sebagai Bioreduktor Dan Uji Aktivitasnya Sebagai Antioksidan. *Indo. J. Chem. Res.*, 7(1), 51–60. <https://doi.org/10.30598/ijcr.2019.7-ptb>