

ABSTRAK

Nanopartikel perak (NPP) diketahui memiliki aktivitas antibakteri dan sering dimanfaatkan di bidang kesehatan sebagai antimikroba yang dapat diaplikasikan terhadap luka. NPP dapat disintesis secara ramah lingkungan menggunakan bahan alami seperti ekstrak kulit jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) yang mengandung flavonoid dan senyawa bioaktif lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari NPP hasil biosintesis menggunakan ekstrak kulit jeruk kunci terhadap bakteri *Escherichia coli*. Sintesis dilakukan dengan mencampurkan larutan AgNO₃ 0,15 M dengan ekstrak pada konsentrasi 10%, 15%, dan 20%. Pengujian dilakukan menggunakan metode difusi cakram dengan Neomycin sulfate sebagai kontrol positif. Hasil menunjukkan bahwa seluruh konsentrasi NPP mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, ditandai dengan terbentuknya zona bening. Rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 7,88 mm (10%), 8,76 mm (15%), 12,12 mm (20%) dan 22,37 mm (kontrol positif), rata-rata tertinggi ditemukan pada konsentrasi 20% yaitu sebesar 12,12 mm dan termasuk kategori kuat. Uji ANOVA menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar perlakuan ($p < 0,05$), namun uji *post hoc Bonferroni* menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan antar ketiga konsentrasi uji. Meskipun begitu, secara deskriptif, konsentrasi 10% menunjukkan daya hambat terbaik. Hasil ini menunjukkan potensi NPP dari ekstrak kulit jeruk kunci sebagai agen antibakteri terhadap *Escherichia coli*.

Kata kunci: Nanopartikel perak, jeruk kunci, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Silver nanoparticles (NPP) are known to have antibacterial activity and are often used in the health sector as antimicrobials that can be applied to wounds. NPP can be synthesized in an environmentally friendly manner using natural ingredients such as key orange peel extract (*Citrus microcarpa Bunge*) which contains flavonoids and other bioactive compounds. This study aims to determine the antibacterial activity of NPP biosynthesized using key orange peel extract against *Escherichia coli* bacteria. Synthesis was carried out by mixing 0.15 M AgNO₃ solution with extracts at concentrations of 10%, 15%, and 20%. Testing was carried out using the disc diffusion method with Neomycin sulfate as a positive control. The results showed that all concentrations of NPP were able to inhibit the growth of *Escherichia coli*, indicated by the formation of a clear zone. The average diameter of the inhibition zone produced was 7.88 mm (10%), 8.76 mm (15%), 12.12 mm (20%) and 22.37 mm (positive control), the highest average was found at a concentration of 20%, which was 12.12 mm and was included in the strong category. The ANOVA test showed a significant difference between treatments ($p < 0.05$), but the Bonferroni post hoc test showed no significant difference between the three test concentrations. However, descriptively, the 10% concentration showed the best inhibition. These results indicate the potential of NPP from *Citrus microcarpa Bunge* extract as an antibacterial agent against *Escherichia coli*.

Keywords: Silver nanoparticles, *Citrus microcarpa Bunge*, *Escherichia coli*.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nanopartikel perak (NPP) dapat dimanfaatkan untuk keperluan medis, makanan dan keperluan industri karena sifat fisik dan kimianya yang unik (Zhang, et al. 2016). Dalam hal medis, NPP dapat digunakan sebagai antimikroba. Mekanisme NPP sebagai antimikroba yaitu dengan cara merusak membran sel yang mengarah pada perubahan struktur sel, sehingga bakteri lebih permeabel (Franci, et al. 2015). Terbukti NPP dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri, diantaranya *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis* (Siddiqi, et al. 2018).

Nanopartikel perak (NPP) memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Pada dekade terakhir telah berkembang biosintesis nanopartikel perak. Biosintesis nanopartikel perak merupakan sintesis nanopartikel perak menggunakan pereduksi dari bahan alam. Beberapa bahan alam mampu menjadi agen pereduksi dalam biosintesis nanopartikel perak seperti *Capsicum annuum L.*, *Azadirachta*, dan *Brucea javanica L. Merr* (Notriawan et al. 2021). Mekanisme nanopartikel perak dalam menghambat bakteri terjadi dengan cara berinteraksi dengan membran bakteri. Proses penghambatan diawali dengan nanopartikel perak menumpuk di permukaan membran bakteri, menembus ke dalam bakteri, dan mengakibatkan terjadinya perubahan permeabilitas membran sel bakteri. Proses tersebut menyebabkan kerusakan pada bakteri dan akhirnya membunuh bakteri. Perusakan membran bakteri dipengaruhi oleh parameter nanopartikel

perak yang meliputi ukuran, bentuk, dan permukaan. Nanopartikel perak yang memiliki ukuran yang kecil dapat berinteraksi dengan lapisan lignin pelindung pada bakteri dengan lebih baik (Zheng, et al. 2018).

Buah jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) merupakan salah satu tanaman yang terdapat di Indonesia dan dikenal secara luas di Kalimantan Barat. Buah jeruk ini biasa di konsumsi dalam bentuk jus dan digunakan sebagai bumbu masak, sedangkan kulitnya digunakan sebagai pelengkap masakan tertentu (Apriliani, et al. 2017). Kulit buah jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) adalah salah satu tanaman yang dapat digunakan ekstraknya untuk proses biosintesis nanopartikel perak. Buah jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) mengandung senyawa flavonoid, terpenoid, alkaloid, tanin dan saponin, sehingga dapat dijadikan bioreduktor dalam sintesis nanopartikel perak. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Masykuroh dan Nurulita (2022) sintesis nanopartikel perak dilakukan dengan bantuan ekstrak kulit buah jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) sebagai bioreduktor dengan variasi konsentrasi ekstrak 10, 15 dan 20% dengan konsentrasi larutan AgNO_3 sebesar 0,15M dan suhu 70°C. Hasil analisis menunjukkan ukuran rata-rata nanopartikel perak yang terbentuk yaitu 253,8 nm (10%), 254,2 nm (15%) dan 253,9 nm (20%). Berdasarkan hasil pengukuran nanopartikel dihasilkan ukuran yang sudah termasuk ke dalam rentang nano dimana ukuran dikatakan nanometer apabila ukuran kisaran 10-1000 nm (Masykuroh dan Nurulita, 2022).

Mikroba penyebab infeksi yang paling sering dijumpai adalah *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli* dan *Bacillus subtilis*. Ketiga bakteri

tersebut merupakan bakteri penghasil toksin yang berbahaya bagi manusia dan kebal terhadap antibiotik. Untuk mengatasi masalah tersebut diperlukan upaya pengendalian kehidupan bakteri penyebab infeksi luka (Ariyanta, 2014). Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif yang bersifat aerobik dan ada juga yang bersifat anaerobik fakultatif. Bakteri *Escherichia coli* mampu bertahan hidup di media sederhana dan dapat memfermentasi laktosa yang dapat memproduksi asam dan gas (Yanuhar, 2019).

Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti tertarik melakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antibakteri nanopartikel perak hasil biosintesis menggunakan ekstrak kulit jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) terhadap bakteri *Escherichia coli*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah nanopartikel perak hasil biosintesis menggunakan ekstrak kulit jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*?
2. Berapa diameter zona hambat nanopartikel perak hasil biosintesis menggunakan ekstrak kulit jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) terhadap *Escherichia coli* serta kategori aktivitas antibakterinya?
3. Konsentrasi berapakah dari nanopartikel perak hasil biosintesis menggunakan ekstrak kulit jeruk kunci yang memberikan daya hambat terbaik terhadap bakteri *Escherichia coli*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui apakah nanopartikel perak hasil biosintesis menggunakan ekstrak kulit jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*.
2. Untuk mengetahui diameter zona hambat nanopartikel perak hasil biosintesis menggunakan ekstrak kulit jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) terhadap bakteri *Escherichia coli* serta kategori aktivitas antibakterinya.
3. Untuk mengetahui konsentrasi nanopartikel perak hasil biosintesis menggunakan ekstrak kulit jeruk kunci yang memberikan daya hambat terbaik terhadap bakteri *Escherichia coli*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan ilmiah dan informasi tentang aktivitas antibakteri nanopartikel perak hasil biosintesis dengan menggunakan ekstrak kulit jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) terhadap bakteri *Escherichia coli*.

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah ilmu pengetahuan dan bisa memberikan data ilmiah yang dapat mendukung penggunaan dan pengembangan kulit jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) yang memiliki aktivitas antibakteri nanopartikel perak.

2. Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dan memberikan informasi kepada masyarakat tentang aktivitas antibakteri nanopartikel perak hasil biosintesis dengan menggunakan ekstrak kulit jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) terhadap bakteri *Escherichia coli*.

3. Bagi Instansi

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan rujukan atau acuan untuk penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri nanopartikel perak hasil biosintesis dengan menggunakan ekstrak kulit jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) terhadap bakteri *Escherichia coli*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Jeruk Kunci (*Citrus microcarpa Bunge*)

2.1.1 Klasifikasi Jeruk Kunci

Adapun kedudukan tanaman jeruk kunci berdasarkan hasil determinasi yang telah dilakukan diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Tracheophyta

Kelas : Magnoliopsida (dicots)

Ordo : Sapindales

Famili : Rutaceae

Genus : *Citrus*

Spesies : *Citrus microcarpa Bunge* (Mukarlina, 2021)



Gambar 1. Buah Jeruk Kunci (Dokumentasi pribadi, 2024)

2.1.2 Nama Lain Jeruk Kunci

Jeruk Kunci (*Citrus microcarpa Bunge*), yang juga dikenal sebagai jeruk kalamansi, calamondin, calamandarain, limau kasturi, limau, merupakan salah satu tanaman jeruk asli khas Asia Tenggara (Palogan, et al. 2023). Jeruk kunci memiliki nama asing di berbagai

negara, seperti kalamansi (Filipina), calamondin, chinese orange, golden lime (Inggris), limau chuit (Malaysia) (Wahyuni, 2020). Tanaman jeruk kunci memiliki nama yang berbeda-beda di setiap daerahnya, seperti di Malaysia Jeruk kalamansi (*Citrus x microcarpa Bunge*) ini lebih dikenal dengan nama kasturi lime atau limau kasturi. Di Philipina *Citrus microcarpa* dikenal dengan nama kumquat, sedangkan di Indonesia Masyarakat lebih mengenal dengan nama jeruk/limau kalamansi (Fauziyah, 2020). Jeruk kunci memiliki nama yang berbeda pada beberapa daerah di Indonesia, seperti di Kalimantan Barat jeruk ini dikenal dengan nama jeruk sambal dan di daerah Maluku dikenal dengan nama jeruk kalamansi.

2.1.3 Morfologi Jeruk Kunci

Tanaman jeruk kunci merupakan tanaman perdu atau pohon kecil yang tumbuh tinggi sekitar 1-2 meter. Buah jeruk kunci merupakan buah drupa atau kapsula, berwarna hijau. Buah jeruk kunci memiliki kulit dengan permukaan halus dan berpori minyak, berwarna kuning, atau berwarna hijau kekuning-kuningan dan bearoma wangi. Daun buah jeruk kunci terletak berhadap-hadapan dan tersebar, daun majemuk menyirip, dan memiliki bintik-bintik bening di permukaan yang menandakan adanya rongga sekresi. Bunga jeruk kunci tersusun dalam rangkaian rasemus, banyak bakal buah, berwarna putih juga mengeluarkan aroma wangi. Daging buah jeruk kunci berwarna putih transparan berasa masam. Ukuran kecil buah jeruk kunci berdiameter sekitar 2-3 cm dan ukuran besar buah jeruk kunci berdiameter antara

3-4 cm. Jeruk ini tumbuh mencapai ketinggian 3-4 meter dengan buah yang relatif sangat kecil dibanding jeruk jenis lain, berbau khas dan sering dipakai sebagai bumbu masakan (Jamal, et al. 2000).

2.1.4 Kandungan Kimia Jeruk Kunci

Kandungan kulit jeruk kunci tidak kalah banyak dibandingkan dengan kandungan buah jeruknya sendiri. Kulit buahnya mengandung minyak atsiri dengan senyawa dominan golongan terpenoid yang terdiri dari monoterpen (limonen, β - mirsen, β -pinen, α -pinen, β -felandren, dan sabinen) dan seskuiiterpen (elemen, farnesen dan isomer gernasren) dengan kadar limonen yang sangat tinggi yaitu lebih dari 94% (Herman, 2019). Kulit buah jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) adalah salah satu tanaman yang dapat digunakan ekstraknya untuk proses biosintesis nanopartikel perak. Buah jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) mengandung senyawa flavonoid, terpenoid, alkaloid, tanin dan saponin.

2.1.5 Manfaat Jeruk Kunci

Buah jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) merupakan salah satu tanaman yang terdapat di Indonesia dikenal secara luas di Kalimantan Barat. Buah jeruk ini biasa di konsumsi dalam bentuk jus dan digunakan sebagai bumbu masak, sedangkan kulitnya digunakan sebagai pelengkap masakan tertentu (Apriliani et al., 2017). Kulit jeruk sambal dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat tradisional di Kalimantan Barat sebagai obat untuk menjaga daya tahan tubuh, obat hipertensi, kudis dan gangguan paru-paru serta kandungan asam sitrat

yang mampu mencerahkan warna pada resin komposit (Sibilang, 2017).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Hasil ekstraksi disebut dengan ekstrak. Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. (Depkes RI, 2000).

2.3 Nanopartikel

Perkembangan teknologi di era digital saat ini tanpa disadari sangat berkembang dengan cepat dari waktu ke waktu. Nanoteknologi merupakan salah satu teknologi yang sangat berkembang pada saat ini. Nanoteknologi adalah teknologi perancangan, pembuatan dan aplikasi struktur atau material berukuran nanometer (Ariyanta et al., 2014).

Nanoteknologi merupakan ranah yang penting pada bidang penelitian modern. Pendekatan nanoteknologi berkaitan dengan desain, sintesis, dan manipulasi yang dilakukan untuk memperoleh struktur partikel dengan ukuran berkisar 1-1000 nm (Kim et al., 2016) yang kemudian disebut dengan partikel berukuran nano atau nanopartikel. Nanopartikel merupakan partikel koloid padat dengan diameter 1-1000 nm, mengandung material yang dapat digunakan untuk pengobatan sebagai pembawa obat yang senyawa aktifnya telah terlarut dan terencapsulasi (Kurniasari dan Atun, 2017). Nanopartikel

memiliki cakupan aplikasi yang sangat luas di berbagai bidang seperti kesehatan, kosmetik, makanan, kesehatan lingkungan, ilmu biomedis, industri kimia, elektronik, mekanik, optik, industri penerbangan, dan masih banyak lagi (Iravani et al, 2014).

Nanopartikel diklasifikasikan menjadi dua jenis yaitu nanopartikel organik dan nanopartikel anorganik. Nanopartikel organik merupakan nanopartikel yang terdiri dari karbon, sedangkan nanopartikel anorganik terdiri dari logam. Menurut Asmathunisha dan Kathiresan (2013), nanopartikel anorganik diklasifikasikan menjadi tiga, yaitu:

1. Nanopartikel magnetik yang terdiri dari logam besi.
2. Nanopartikel logam mulia yaitu nanopartikel yang terdiri dari logam-logam mulia seperti platinum, perak atau emas.
3. Nanopartikel semikonduktor yaitu nanopartikel yang terdiri dari titanium dioksida atau zink oksida. Adapun nanopartikel lainnya ialah nanopartikel polimer, silika dan biomolekul.

Tabel 1. Aplikasi Nanopartikel

Bidang Ilmu	Aplikasi
Tekstil	Pelindung sinar UV pada tekstil, anti noda pada tekstil, medikal tekstil
Biomedis	Terapi kanker, diagnosis, <i>drug delivery</i> , <i>cell imaging</i>
Kesehatan	Melindungi dari sinar UV, krem obat salep dan urap, <i>nutraceutical</i>
Makanan dan Pertanian	Pembungkus makanan, sensor analisa kualitas makanan
Katalisis	Katalisator bahan bakar, katalisator bahan aditif, fotokatalisis produksi hidrogen
Lingkungan	Air disinfektan, filter karbon aktif, pengelolaan limbah air

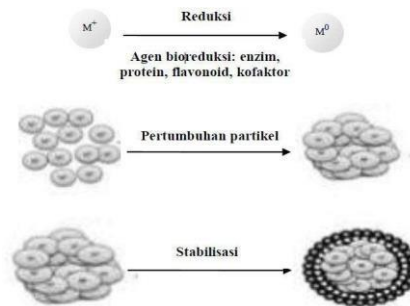
(Sumber: Keat et al., 2015; Aritonang et al., 2022)

2.4 Nanopartikel Perak (Ag)

Perak memiliki nomor atom 47 dan massa atom 107,8682 g/mol. Konfigurasi elektronnya adalah [Kr] 5s¹ 4d¹⁰, dengan kerapatan sekitar 10,5 g/mL, melebur pada suhu 960,5°C. Perak memiliki empat jenis keadaan oksidasi yaitu Ag⁰, Ag⁺, Ag²⁺, Ag³⁺, dimana dua bentuk pertama sangat melimpah, sedangkan dua berikutnya cenderung tidak stabil, terutama dalam lingkungan air (Khosi'atun, 2016).

Beberapa faktor yang menjadi daya tarik nanopartikel Ag adalah kemampuan menyerap pada daerah sinar tampak, sitotoksitasnya terhadap

mikroba dan sel-sel tumor, sifat optik, konduktivitas, stabilitas kimia, aktivitas sebagai fungisida dan bakterisida (Singh et al., 2015; Mittal et al., 2016).



Gambar 2. Skema Reduksi, Pertumbuhan dan Stabilisasi Nanopartikel.

(Fatimah dan Mutiara, 2016)

Proses sintesis nanopartikel Ag membentuk polimer Ag dan terhidrolisis membentuk inti Ag. Inti Ag muncul dalam kondisi jenuh sehingga menyebabkan terbentuknya koloid seperti dijelaskan pada Gambar 2 (Fatimah dan Mutiara, 2016).

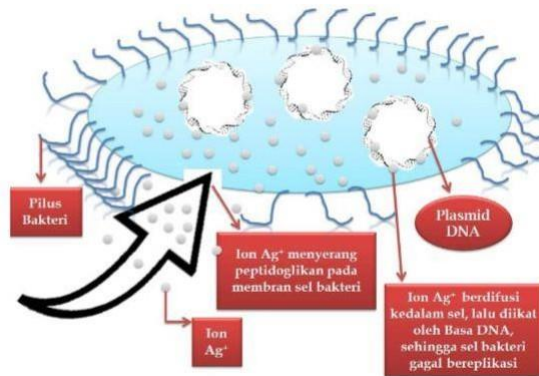
2.5 Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Perak

Nanopartikel senyawa logam saat ini mendapatkan perhatian yang sangat besar karena aplikasinya yang sangat besar dalam berbagai bidang, diantaranya bidang biomedisinal, seperti pada studi yang memaparkan tentang penggunaan nanopartikel perak sebagai agen terapi luka. Pengobatan topikal dengan basis nanopartikel perak telah digunakan secara luas dalam pengobatan infeksi pada luka terbuka dan pada ulkus kronis. Studi serupa juga dilakukan oleh Jun Tian et al tentang pemanfaatan nanopartikel perak pada terapi wound healing, dimana dari hasil observasi yang dilakukan menunjukkan adanya percepatan kesembuhan pada luka yang diterapi dengan nanopartikel perak (Yu-jin et al., 2016).

Nanopartikel perak (NPP) dapat dimanfaatkan untuk keperluan medis, makanan dan keperluan industri karena sifat fisik dan kimianya yang unik (Zhang, et al. 2016). Dalam hal medis, NPP dapat digunakan sebagai antimikroba. Mekanisme NPP sebagai antimikroba yaitu dengan cara merusak membran sel yang mengarah pada perubahan struktur sel, sehingga bakteri lebih permeabel (Franci, et al. 2015). Terbukti NPP dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri, diantaranya *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis* (Siddiqi, et al. 2018).

Nanopartikel perak (NPP) memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Pada dekade terakhir telah berkembang biosintesis nanopartikel perak. Biosintesis nanopartikel perak merupakan sintesis nanopartikel perak menggunakan pereduksi dari bahan alam. Beberapa bahan alam mampu menjadi agen pereduksi dalam biosintesis nanopartikel perak seperti *Capsicum annuum L.*, *Azadirachta*, dan *Brucea javanica L. Merr* (Notriawan, et al. 2021). Mekanisme nanopartikel perak dalam menghambat bakteri terjadi dengan cara berinteraksi dengan membran bakteri. Proses penghambatan diawali dengan nanopartikel perak menumpuk di permukaan membran bakteri, menembus ke dalam bakteri, dan mengakibatkan terjadinya perubahan permeabilitas membran bakteri. Proses tersebut menyebabkan kerusakan pada bakteri dan akhirnya membunuh bakteri. Perusakan membran bakteri dipengaruhi oleh parameter nanopartikel perak yang meliputi ukuran, bentuk, dan permukaan. Nanopartikel perak yang memiliki ukuran yang kecil dapat berinteraksi dengan lapisan lignin pelindung pada bakteri dengan lebih baik (Zheng, et al. 2018).

Desain material dalam bentuk nano seperti ion Ag^+ dapat membuat luas permukaan semakin tinggi, sehingga akan memberikan sifat baru yang sangat berbeda bila dibandingkan dalam bentuk mikro. Salah satunya adalah efek antibakteri. Ukuran partikel Ag^+ semakin kecil seperti dalam bentuk ion, akan membuat efek antibakteri semakin tinggi (Prabhu dan Poulouse, 2012; Guzmán, et al. 2009). Mekanisme ion Ag^+ merusak sel bakteri yaitu dengan berikatan dengan membran sel bakteri dan merusak membran plasma. Ketidakmampuan sel dalam menetralkan ion Ag^+ membuat kerusakan struktur pada membran sel dan menghilangkan kemampuan enzim bakteri untuk bermetabolis oksigen. Bagian sel bakteri lain yang dapat menjadi serangan ion Ag^+ adalah DNA bakteri. Ion tersebut dapat berdifusi dan berikatan dengan DNA bakteri, karena senyawa tersebut mengandung muatan negatif. Hal ini membuat DNA mampu menarik ion Ag^+ untuk berikatan. Hadirnya ion Ag^+ pada DNA bakteri, membuat bakteri gagal bereplikasi dan transkripsi, sehingga menyebabkan kematian sel pada bakteri (Prabhu dan Poulouse, 2012; Guo, et al. 2013). Mekanisme atom Ag sebagai antibakteri menurut Cao (2017) yaitu bekerja dengan cara NPAg melepaskan ion Ag^+ kemudian ion Ag^+ berinteraksi dengan DNA sehingga mengganggu replikasi dan ion Ag^+ menginduksi produksi ROS untuk merusak protein, RNA dan DNA bakteri. Ilustrasi terkait mekanisme ion Ag^+ merusak sel bakteri dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Mekanisme Ion Ag^+ merusak sel bakteri (Galang et al., 2022)

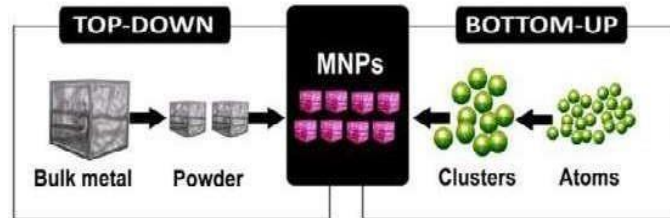
Mekanisme antibakteri nanopartikel dapat menyerang strain bakteri menurut (Li, et al. 2008) meliputi tahap berikut:

1. Adhesi nanopartikel terhadap permukaan bakteri yang mengubah sifat membran. Nanopartikel dengan ukuran kecil dan luas permukaan besar mampu berhubungan dengan permukaan mikroorganisme.
2. Nanopartikel perak masuk ke dalam sel bakteri menyebabkan kerusakan DNA.
3. Nanopartikel perak melepaskan ion Ag^+ yang dapat berinteraksi dengan protein yang mengandung sulfur dalam dinding sel bakteri. Ion Ag^+ terlarut berinteraksi dengan dinding sel dan protein sitoplasma.

2.6 Sintesis Nanopartikel Perak

Secara umum nanopartikel dapat disintesis dengan menggunakan dua metode yaitu metode *top down* (metode fisika) dan metode *bottom up* (metode kimia). Metode *top down* (metode fisika) dilakukan dengan memecah padatan logam yang berukuran besar menjadi partikel-partikel kecil berukuran nano melalui proses penggilingan. Metode *bottom up* (metode kimia) biasa disebut sebagai proses *self assembly* dilakukan dengan cara melarutkan prekursor

partikel yang berupa garam logam, agen pereduksian penstabil sehingga terbentuk nanopartikel (Chou dan Lu, 2008).



Gambar 4. Metodologi Sintesis Nanopartikel Secara Umum (Rath et al., 2014)

Senyawa-senyawa organik yang terdapat dalam tanaman diketahui dapat berfungsi sebagai reduktor yang dapat menggantikan atau berperan sebagai komplemen reduktor anorganik. Pemanfaatan senyawa-senyawa organik yang dimiliki oleh tanaman dalam sintesis nanopartikel dikenal sebagai biosintesis yang merupakan suatu metode yang bersifat ramah lingkungan dan sederhana (Handayani, 2011). Biosintesis adalah metode sintesis nanopartikel menggunakan pendekatan *bottom up*. Sintesis nanopartikel dengan metode biosintesis melibatkan senyawa-senyawa organik seperti enzim, protein, karbohidrat maupun metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman, hewan, mikroorganisme terutama golongan polihidroksi, flavonoid, dan terpenoid yang diketahui mampu mereduksi Ag^+ menjadi Ag^0 dalam proses pembentukan nanopartikel (Maryani et al., 2017; Shankar et al., 2004; Daniel et al., 2012).

Dewasa ini, sintesis nanopartikel secara biologi lebih disukai dibandingkan metode fisikokimia, karena dinilai lebih banyak membawa manfaat, diantaranya yaitu lebih *ecofriendly*, *non toxic*, lebih *reproducible*, lebih mudah di-*scale up* serta morfologinya permukaannya lebih baik (Kim et al., 2016, Parashar et al., 2009). Sumber sintesis nanopartikel secara biologi adalah

mikroorganisme dan tumbuhan. Namun demikian, penggunaan tanaman untuk sintesis nanopartikel lebih disukai dibandingkan dengan mikroorganisme karena berbagai alasan, diantaranya: proses yang lebih sederhana, lebih cepat, lebih *cost-effective*, lebih *biocompatible* sehingga lebih aplikatif untuk dimanfaatkan pada bidang medis. Hampir semua komponen dalam tanaman seperti protein, asam amino, asam organik, vitamin, dan metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, polifenol, terpenoid, komponen heterosiklik, dan polisakarida mempunyai peran yang signifikan dalam mereduksi logam, mampu bertindak sebagai *capping* dan *stabilizing agent* dalam sintesis nanopartikel (Kim et al., 2016).

Makarov et al. (2014), mengemukakan bahwa terdapat tiga tahap utama dalam mekanisme sintesis nanopartikel memanfaatkan ekstrak tanaman, yaitu:

1. Tahap aktivasi dan nukleasi, dimana ion logam mengalami reduksi dan proses nukleasi dimana atom logam mengalami reduksi.
2. Tahap *growth* atau stabilisasi yaitu nanopartikel yang berdekatan, secara spontan mengalami peleburan menjadi partikel dengan ukuran yang lebih besar yang disertai dengan peningkatan stabilisasi termodinamika partikel.
3. Tahap terminasi, adalah tahap yang menentukan bentuk nanopartikel. Dalam tahap ini nanopartikel akan memperoleh konformasi yang paling berenergi. Tahap ini dipengaruhi oleh kemampuan ekstrak biologis untuk menstabilkan nanopartikel logam.

Logam yang dapat dibuat nanopartikel diatas antara lain Au, Pt, Ag, Pd, Co, Fe. Zat pereduksi kimia yang digunakan dalam reduksi dapat berupa natrium sitrat, borohidrat, NaBH₄ dan alkohol. Proses pembentukan nanopartikel ini

terjadi karena adanya transfer elektron dari zat pereduksi menuju ion logam. Faktor yang mempengaruhi sintesis nanopartikel antara lain konsentrasi reaktan, molekul pelapis (*capping agent*), suhu dan pengadukan (Fernandez, 2011).

2.7 Biosintesis Nanopartikel Perak

Istilah biosintesis berarti pembentukan senyawa alami oleh organisme hidup. Biosintesis juga diartikan sebagai pembentukan molekul alami dari molekul lain yang kurang rumit strukturnya atau suatu proses anabolisme. Nanopartikel perak dapat diproduksi dengan beberapa metode seperti biologi, kimia dan fisika. Produksi dengan metode kimia dan fisika cukup mahal, penggunaan bahan yang berbahaya memiliki resiko pencemaran terhadap lingkungan. Tumbuhan adalah bahan yang lebih ramah lingkungan dan ekonomis untuk mensintesis nanopartikel perak. Tumbuhan berfungsi sebagai reduktor dan stabilisator dalam sintesis nanopartikel perak. Tumbuhan menawarkan opsi yang lebih baik untuk sintesis nanopartikel karena bebas dari bahan kimia beracun. Selain itu tumbuhan juga memproduksi *capping agent* alami (Vithiya dan Sen, 2011).

Setiap tanaman menghasilkan berbagai macam metabolit sekunder. Salah satu gugus terpenting dari metabolit tersebut adalah senyawa fenolik. Fenolik memiliki paling tidak satu cincin aromatik (C6) yang membawa gugus hidroksil. (Michalak, 2006). Oleh karena adanya senyawa karbonil dan hidroksil yang terdapat pada fenolik sehingga memiliki sifat kecenderungan tinggi mengkelat logam. Fenolik juga mampu mereduksi ukuran partikel perak

menjadi ukuran nano (Devi, et al. 2014). Salah satu cara biosintesis menurut Bughez, et al. (2012) yaitu mereduksi ion Ag^+ menggunakan ekstrak tanaman.

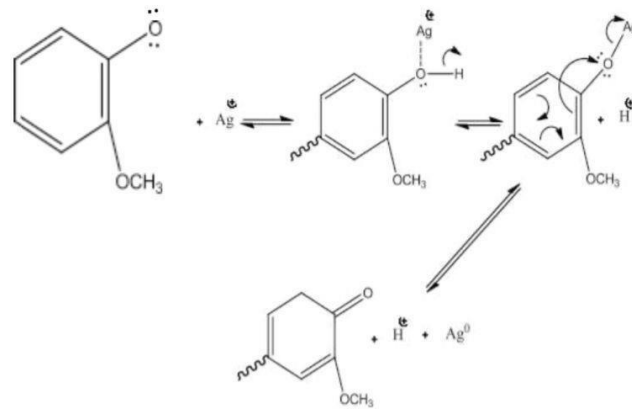


Gambar 5. Mekanisme sintesis NPP (Bughez, et al. 2012)

Prinsip sintesis nanopartikel perak menggunakan metode *bottom up* adalah reaksi reduksi ion Ag^+ menjadi Ag^0 yakni berupa nanopartikel perak. Untuk mewujudkan terjadinya reaksi reduksi tersebut diperlukan suatu agen pereduksi (Intan dan Suyatno, 2021). Pada sintesis Nanopartikel Perak (NPP), menggunakan ekstrak tumbuh-tumbuhan sebagai bioreduktor untuk mereduksi spesies Ag^+ menjadi Ag^0 . Terdapat berbagai macam bahan yang dapat digunakan sebagai bioreduktor, salah satu contohnya adalah ekstrak tumbuhan. Proses tersebut melibatkan senyawa metabolit sekunder dari tumbuh-tumbuhan (Nadiatul et al, 2022). Kandungan antioksidan dalam ekstrak tumbuhan seperti flavonoid, fenolik, tanin, dan lain-lain dapat berperan sebagai bioreduktor dan capping agent yang dapat mereduksi ion Ag^+ (perak) dan gugus fungsi yang dapat berperan untuk mereduksi ion perak menjadi Nanopartikel Perak (NPP). Oleh karena itu bioreduktor dari ekstrak tumbuhan dapat dijadikan pilihan alternatif dari bioreduktor sintetis (Intan dan Suyatno, 2021).

Senyawa flavonoid dan tanin selain sebagai reduktor, juga bisa sebagai penstabil karena memiliki gugus fungsi hidroksil ($-\text{OH}$) dan karbonil ($-\text{CO}$) yang berinteraksi dengan partikel perak membentuk lapisan *electric double layer*. Semakin tinggi konsentrasi dari senyawa penstabil ini akan

menghasilkan ukuran partikel yang semakin kecil. Mekanisme proses sintesis Ag Nanopartikel dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Mekanisme pembentukan Ag nanopartikel oleh flavonoid
(Nadiatul, et al, 2022)

Berdasarkan gambar di atas antara ion Ag⁺ dan senyawa polifenol terjadi reaksi reduksi dimana ion Ag⁺ sebagai reaktan berperan menjadi katalis. Senyawa polifenol mengalami perubahan gugus menjadi gugus R-O⁻ dari gugus R-OH. Kemudian membentuk gugus RO-Ag dengan mengikat ion Ag⁺. Pada reaksi ini akan mengalami pemutusan rantai polifenol karena ion Ag⁺ yang terikat dan terlepas membentuk Ag nanopartikel. Prinsip dari sintesis Ag nanopartikel secara green synthesis ini ialah dengan memanfaatkan bahan biologis pada tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai bioreduktor. Senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada kulit jeruk kunci dapat bekerja dengan cara mendonorkan elektron ke ion Ag⁺ untuk mendapatkan Ag nanopartikel. Terdapatnya perubahan warna merupakan salah satu indikator terbentuknya Ag nanopartikel karena telah terjadinya proses reduksi ion perak (Nadiatul, et al, 2022).

2.8 Uji Aktivitas Antibakteri

Metode pengujian antibakteri dilakukan untuk mengetahui efektivitas suatu zat terhadap bakteri. Pengujian antibakteri memanfaatkan mikroorganisme sebagai penentu konsentrasi komponen tertentu pada campuran kompleks kimia, untuk mendiagnosis penyakit tertentu. Pada uji ini diukur pertumbuhan mikroorganisme terhadap agen antimikroba (Rahmadani, 2015). Beberapa macam metode pengujian antibakteri yaitu :

2.8.1 Metode Difusi

Pada metode ini, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambatan yang akan terbentuk disekeliling zat antimikroba pada waktu tertentu masa inkubasi (Brooks, 2007). Pada metode ini dapat dilakukan dengan 3 cara, yaitu :

1. Cara Cakram (*Disk*)

Cara ini merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat-obatan. Pada cara ini, digunakan suatu cakram kertas saring yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada umumnya, hasil yang didapat bisa diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37° C. Hasil pengamatan yang

diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri. Kelebihannya adalah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah, sedangkan kelemahannya adalah tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan preinkubasi serta ketebalan medium. Apabila keempat faktor tersebut tidak sesuai maka hasil dari metode cakram disk biasanya sulit untuk diinterpretasikan (Maradona, 2013).

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji, dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang akan terbentuk disekitar parit (Maradona, 2013).

2. Cara Parit (*Ditch*)

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji, dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang akan terbentuk disekitar parit (Maradona, 2013).

3. Cara Sumuran (*Hole/cup*)

Pada lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji, dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba

uji. Kemudian setiap lubang itu diisi dengan zat uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan disekeliling lubang (Maradona, 2013).

2.8.2 Metode Dilusi

Metode ini menggunakan prinsip pengenceran antibakteri sehingga diperoleh beberapa konsentrasi obat yang ditambah suspensi bakteri dalam media. Pada metode ini yang diamati adalah ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, jika ada diamati tingkat kesuburan dari pertumbuhan bakteri dengan cara menghitung jumlah koloni (Hasibuan, 2016). Tujuan akhirnya adalah untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antibakteri yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri yang diuji (Brooks et al., 2007). Metode dilusi dibedakan menjadi dua, yaitu:

1. Metode dilusi cair (*Broth Dilution Test*)

Metode ini digunakan untuk mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antibakteri pada medium cair yang ditambahkan dengan bakteri uji. Larutan uji agen antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun agen antibakteri, dan diinkubasi selama 18 –24 jam. Media cair yang

tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Hasibuan, 2016).

2. Metode dilusi padat (*Solid Dilution Test*)

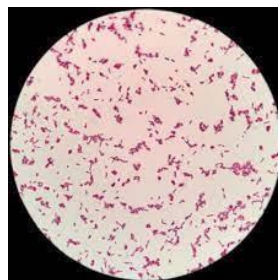
Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat. Pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampurkan dengan media agar lalu ditanami bakteri dan diinkubasi. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa bakteri uji (Hasibuan, 2016).

2.9 Bakteri *Escherichia coli*

2.9.1 Sejarah Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli pertama kali diidentifikasi oleh dokter hewan Jerman, Theodor Escherich dalam studinya mengenai sistem pencernaan pada bayi hewan. Pada 1885, beliau menggambarkan organisme ini sebagai komunitas bakteri coli (Escherich, 1885) dengan membangun segala perlengkapan patogenitasnya di infeksi saluran pencernaan. Nama “*Bacterium coli*” sering digunakan sampai pada tahun 1991. Ketika Castellani dan Chalames menemukan genus *Escherichia* dan menyusun tipe spesies EC (Irma, 2021).

2.9.2 Klasifikasi Bakteri *Escherichia coli*



Gambar 7. Bakteri *Escherichia coli* (Wicaksono, 2016)

Klasifikasi Bakteri *Escherichia coli* berdasarkan Brooks dalam buku Jawetz Medical Microbiology pada tahun 2010 adalah sebagai berikut:

Kingdom : Prokaryotae

Divisi : Gracilicutes

Kelas : Scotobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli* (Jawetz, 2010).

2.9.3 Morfologi Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif berbentuk batang berukuran 1,0-1,5 μm x 2,0-6,0 μm , berflagel atau non-motil berukuran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm dan memiliki simpai, dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen, bersifat anaerobik dan mentolerir defisiensi nutrisi. *Escherichia coli* memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm . dan membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Hidayati, et al. 2016).

Sifat biokimia lain dari *Escherichia coli* adalah kemampuan membentuk indol, fermentasi sitrat rendah, negatif dalam analisis urease. Bakteri *Escherichia coli* biasanya hidup di saluran pencernaan manusia atau hewan. Secara fisiologis *Escherichia coli* mampu bertahan dalam kondisi lingkungan yang keras, *Escherichia coli* tumbuh baik di air tawar, air laut atau tanah (Rahayu, Nurjanah dan Komalasari, 2018).

2.9.4 Patogenesis Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah salah satu bakteri usus dan merupakan anggota mikrobiota usus normal. Bakteri ini biasanya tidak bersifat patogen dan berperan dalam fungsi normal dan nutrisi di usus. Bakteri menjadi patogen ketika berada di luar usus, yaitu di lokasi normalnya atau di tempat lain di mana flora normal jarang ditemukan (Lestari, Noverita dan Permana, 2020). Bakteri ini menjadi patogen jika jumlahnya meningkat di saluran cerna atau jika bakteri tersebut berada di luar saluran cerna (Hutasoit, 2020). Berdasarkan patogenisitasnya, *Escherichia coli* dibagi menjadi enam jenis: enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC), enteropatogenik *Escherichia coli* (EPEC), enterohemoragik *Escherichia coli* (EHEC), enteroinvasif *Escherichia coli* (EIEC), enteroagregatif *Escherichia coli* (EAEC), dan difusi adheren *Escherichia coli* (DAEC) (Rahayu, Nurjanah dan Komalasari, 2018).

Enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC) penyebab diare perjalanan, Enteropatogenik *Escherichia coli* (EPEC) penyebab diare, yang relatif jarang terjadi pada orang dewasa dan biasanya menyerang anak di bawah usia dua tahun, dan Enteroinvasif *Escherichia coli* (EIEC) penyebab diare dengan demam (Gitaswari dan Budayanti, 2019). Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) adalah strain *Escherichia coli* yang berhubungan erat dengan diare akut pada anak, dan penyebab diare kedua setelah ETEC adalah difusi adhesif

Escherichia coli (DAEC) *Escherichia coli* keenam (Rahayu, Nurjanah dan Komalasari, 2018).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, pisau, *hot plate*, *magnetic stirrer*, termometer air raksa, kaca arloji, cawan porselen, labu ukur, *aluminium foil*, pipet tetes, sendok stainless steel neraca analitik, cawan petri steril, tabung reaksi, oven, jarum ose, pinset, batang L, batang pengaduk, kain kasa dan kapas, pipet mikro, lampu spiritus, kertas pembungkus, toples bening dan autoklaf.

3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*), AgNO₃, aquadest, medium Mueller Hinton Agar (MHA), NaCl fisiologis, cakram disc, bakteri *Escherichia coli* dan gel *neomycin sulfate*.

3.3 Tempat Penelitian

Determinasi tanaman untuk memastikan spesies tanaman dilakukan di Laboratorium FMIPA Biologi Universitas Tanjungpura. Sintesis Nanopartikel Perak (NPP) hasil biosintesis menggunakan ekstrak kulit jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) dilakukan di Laboratorium Kimia Akademi Farmasi Yarsi Pontianak dan uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Akademi Farmasi Yarsi Pontianak.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Penyiapan Sampel Penelitian

Sampel berupa kulit jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) yang masih segar diambil di Kabupaten Kubu Raya, Provinsi Kalimantan Barat.

3.4.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Jeruk Kunci (*Citrus microcarpa Bunge*)

Kulit buah jeruk kunci segar dibersihkan dari pengotoran kemudian dicuci. Dilakukan ekstraksi yaitu 10 gram kulit jeruk kunci segar dirajang kemudian ditambahkan dengan 90 mL akuades. Campurkan 10 gram kulit jeruk kunci dan 90 mL akuades tersebut kemudian dipanaskan pada suhu 65°C selama 10 menit selanjutnya disebut ekstrak segar kulit jeruk kunci (Krishnaraj et al., 2012).

3.4.3 Biosintesis Nanopartikel Perak (NPP)

Larutan AgNO₃ 0,15 M ditambahkan pada ekstrak dengan variasi konsentrasi (10, 15 dan 20%) sehingga volume totalnya menjadi 100 mL. Campuran dipanaskan pada suhu 70°C selama 10 menit. Nanopartikel perak dianggap sudah terbentuk ketika terjadinya perubahan warna larutan dari kuning muda hingga coklat tua disertai adanya endapan partikel atau koloid yang dimana semakin besar konsentrasi ekstrak maka warna yang dihasilkan semakin gelap atau berwarna coklat tua (Masykuroh dan Nurulita, 2022).

3.5 Penyiapan Uji Antibakteri

3.5.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan disterilisasikan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan. Alat yang akan di sterilkan yaitu cawan petri, tabung reaksi dan kertas cakram. Alat dibungkus dengan menggunakan kertas sampul dan disterilkan didalam oven pada suhu 150 °C selama 2 jam. Untuk Erlenmeyer dimasukkan kedalam autoklaf dengan suhu 121 °C selama 15 menit. Jarum ose, pinset dan batang L dipijarkan dengan lampu spiritus (Evani, 2022).

3.5.2 Pembuatan Medium Mueller Hinton Agar (MHA)

Ditimbang medium Mueller Hinton Agar (MHA) instan sebanyak 19 gram dilarutkan dalam aquadest hingga 500 mL, lalu dipanaskan sampai larutan jernih. Kemudian disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit (Evani, 2022).

3.5.3 Penyiapan Kertas Cakram

Kertas cakram steril dengan diameter 6 mm disiapkan kemudian direndam ke dalam masing-masing sampel selama 15 menit, dilakukan secara aseptik kemudian siap untuk diletakkan pada medium yang digunakan (Evani, 2022).

3.5.4 Peremajaan Kultur Murni Bakteri

Penyiapan bakteri uji dapat dilakukan dengan cara peremajaan kultur murni bakteri uji. Kultur murni bakteri uji diinokulasikan sebanyak 1 ose pada medium miring Mueller Hinton Agar (MHA) dalam tabung reaksi

dengan cara digoreskan zig-zag secara aseptik, kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C (Evani, 2022).

3.5.5 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Hasil dari peremajaan bakteri uji disuspensikan dengan cara diambil 1 ose bakteri uji yang telah diremajakan dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi 10 mL NaCl fisiologis (Evani, 2022).

3.5.6 Pengujian Daya Hambat

Medium Mueller Hinton Agar (MHA) yang telah larut disterilkan dengan autoklaf selama 30 menit dan didinginkan, dimasukkan ke dalam cawan petri, ditunggu hingga dingin dan medium Mueller Hinton Agar (MHA) memadat. Dimasukkan suspensi bakteri *Escherichia coli* sebesar 100 µL pada cawan petri yang telah disterilkan dan berisi medium Mueller Hinton Agar (MHA) yang sudah memadat. Diambil kertas cakram kemudian dicelupkan kedalam larutan hasil biosintesis Nanopartikel Perak (NPP) dengan konsentrasi 10%, 15% dan 20% serta gel *Neomycin sulfate* sebagai kontrol positif selama 15 menit. Kemudian semua kertas cakram diletakkan pada permukaan medium yang sudah memadat. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada pengujian daya hambat ini dibuat sebanyak 3 kali replikasi. Setelah diinkubasi, diameter zona hambat diukur dengan menggunakan jangka sorong (Evani, 2022). Menurut Davis dan Stout (1971), kriteria kekuatan daya antibakteri adalah diameter zona hambat <5mm (kategori lemah), 5-10 mm (kategori sedang), 10-20 mm (kategori kuat), dan 20 mm (kategori sangat kuat).

3.6 Pengamatan

Pengamatan dilakukan setelah diinkubasi selama 24 jam, kemudian diukur luas daerah hambatan yang terbentuk di sekitar zona bening pada kertas cakram dengan menggunakan alat jangka sorong, selanjutnya zona bening yang terbentuk pada kertas cakram diukur dari 3 sisi yang berbeda, kemudian dirata-ratakan dengan perhitungan nilai skala utama ditambah dengan hasil perkalian skala nonius dengan angka ketelitian.

3.7 Analisis Data

Setelah dilakukan pengukuran zona hambat kemudian data tersebut dideskripsikan dalam bentuk tabulasi (tabel) dan uji statistik *One-Way ANOVA* (*Analysis of Variance*).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai uji aktivitas antibakteri nanopartikel perak hasil biosintesis menggunakan ekstrak kulit jeruk kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) terhadap bakteri *Escherichia coli*, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Nanopartikel perak hasil biosintesis menggunakan ekstrak kulit jeruk kunci memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hal ini dibuktikan dengan terbentuknya zona hambat pada setiap variasi konsentrasi (10%, 15%, dan 20%) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.
2. Rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada konsentrasi 10% sebesar 7,88 mm, konsentrasi 15% sebesar 8,76 mm, dan konsentrasi 20% sebesar 12,12 mm. Berdasarkan kriteria Davis dan Stout, konsentrasi 10% dan 15% termasuk dalam kategori sedang, sedangkan konsentrasi 20% termasuk dalam kategori kuat.
3. Berdasarkan dari hasil uji statistik *One-Way ANOVA (Analysis of Variance)*, ketiga konsentrasi tersebut tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan satu sama lain. Oleh karena itu, dari ketiga konsentrasi tersebut, konsentrasi 10% dipilih sebagai konsentrasi terbaik.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menunjang penelitian yang telah

dilakukan, diantaranya disarankan untuk mengembangkan penelitian ini dengan variasi konsentrasi yang lebih besar agar hasil pengujian antibakteri bisa didapatkan lebih baik dan perlu dilakukan pengujian lanjutan terhadap bakteri lain, yaitu bakteri gram positif seperti bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*, bakteri gram negatif yaitu bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan bakteri penyebab utama jerawat yaitu bakteri *Cutibacterium acnes* untuk mengetahui spektrum aktivitas antibakteri dari nanopartikel perak hasil biosintesis kulit jeruk kunci.

DAFTAR PUSTAKA

- Apriliani, Maya., Ramadhan, Adam M., & Rijai, Laode. (2017). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa*) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen. *Proceeding of the 5th Mulawarman Pharmaceuticals Conferences Volume 5, April Tahun 2017: 157-164.*
- Aritonang, Henry F., Katja, Dewa G., Lolo, Widya Astuty., Tuuk, Yulia Feiren., Asri, Akbar Fikrah., & Babay, Ryscha Yolrian. (2022). *Biosintesis Nanopartikel Perak (Ag) Menggunakan Ekstrak Daun Afrika (Vernonia Amygdalina) dan Polietilen Glikol 6000 Serta Aplikasinya Sebagai Detektor Ion Logam Berat*. Laporan Akhir Riset Terapan Unggulan UNSRAT tidak diterbitkan. Universitas Sam Ratulangi. Manado.
- Ariyanta, Harits Atika. (2014). Preparasi Nanopartikel Perak Dengan Metode Reduksi dan Aplikasinya Sebagai Antibakteri Penyebab Luka Infeksi. *Jurnal Media Kesehatan Masyarakat Indonesia Volume 10 Nomor 1, Maret Tahun 2014: 36-42.*
- Astriani, Rahmi & Feladita, Niken. (2022). Perhitungan Angka Lempeng Total (ALT) Bakteri Pada Jamu Gendong Beras Kencur yang Beredar di Pasar Tradisional Way Kandis dan Pasar Tempel Way Halim. *Jurnal Analis Farmasi Volume 7 Nomor 2, Oktober Tahun 2022: 175–184.*
- Brooks, Geo. F., Carroll, Karen. C., Butel, Janet. S., & Morse, Stephen. A. (2007). *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology, 24th ed.* McGraw-Hill.
- Chandra, Veren Evelyn., R.S.A, Syarifah Nurul Yanti., Mardhia, Mardhia., & Mahyarudin, Mahyarudin. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Air Perasan Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa Bunge*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*. *Majalah Kedokteran Andalas Volume 45 Nomor 2 April Tahun 2022: 134-143.*
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). (2012). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 22nd Informational Supplement. CLSI document M100-S22.*
- Evani, Costa Rica. (2022). *Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri Escherichia coli Sediaan Gel Nanokoloid Perak Hasil Biosintesis Menggunakan Ekstrak Tanaman Keladi Sarawak (Alocasia macrorrhizes L.)*. Karya Tulis Ilmiah tidak diterbitkan. Akademi Farmasi Yarsi Pontianak. Pontianak.
- Fajri, Nadiatul., Putri, Levi Febiola Aulia., Prasetio, Muhamad Reza., Azizah, Nur., Pratama, Yoga., & Susanto, Nindita Clourisa Amaris. (2022). Potensi Batang Pisang (*Musaparadisiacal*) Sebagai Bioreduktor dalam Green Sintesis Ag Nanopartikel. *Jurnal Penelitian Sains Volume 24 Nomor 1, April Tahun 2022: 33-37.*

- Fauziyah, Dona. (2020). *Formulasi dan Uji Daya Hambat Mikroemulsi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi (Citrus x microcarpa Bunge) Sebagai Spray Hand Sanitizer Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus*. Skripsi tidak diterbitkan. Universitas Perintis Indonesia. Padang.
- Franci, Gianluigi., Falanga, Annarita., Galdiero, Stefania., Palomba, Luciana., Rai, Mahendra., Morelli, Giancarlo., & Galdiero, Massimiliano. (2015). Silver Nanoparticles as Potential Antibacterial Agents. *Journal of MDPI Volume 20 Nomor 5, Mei Tahun 2015: 8856-8874*.
- Herman, Novianti. (2019). *Penentuan Parameter Bilangan Asam, Indeks Bias dan Kelarutan Dalam Alkohol Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Sambal (Citrus microcarpa Bunge) dengan Variasi Ukuran Perajangan*. Karya Tulis Ilmiah tidak diterbitkan. Akademi Farmasi Yarsi Pontianak. Pontianak.
- Johansyah, Mohammad. (2018). *Biosintesis Nanopartikel Perak Menggunakan Ekstrak Mangrove Avicennia Marina Dan Aktivitasnya Sebagai Antibakteri*. Skripsi tidak diterbitkan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Keat, Cheah Liang., Aziz, Azila., Eid, Ahmad M., & Elmarzug, Nagib A. (2015). Biosynthesis of Nanoparticles and Silver Nanoparticle. *Bioresources and Bioprocessing Volume 15 Nomor 2, Tahun 2015: 47-57*.
- Kim, Tae Kyun. (2015). T test as a parametric statistic. *Korean Journal of Anesthesiology Volume 68 Nomor 6, Tahun 2015: 540-546*.
- Kherid, Mohammad Thahir., Dianasari Dewi., & Nuri. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia augusta Merr.*) dan Fraksinya Terhadap *Salmonella typhi*. *Pharmaceutical Journal Of Indonesia Volume 5 Nomor 2, Juni Tahun 2020: 97-102*.
- Khosi'atun. (2016). *Biosintesis Nanopartikel Perak Dengan Reduktor Ekstrak Kulit Pisang Kepok (Musa paradisiaca Linn.) dan Laju Pembentukannya*. Skripsi tidak diterbitkan. Universitas Negeri Semarang. Semarang.
- Krishnaraj, C., Ramachandran, R., Mohan, K., Kalaichelvan, P.T. (2012). Optimization For Rapid Synthesis of Silver Nanoparticles and Its Effect On Phytopathogenic Fungi. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy Volume 93, Maret Tahun 2012: 95-99*.
- Masykuroh, Athiah & Nurulita, Nadia Nia. (2022). Potensi Ekstrak Kulit Jeruk Kunci (*Citrus microcarpa Bunge*) Sebagai Bioreduktor Dalam Sintesis Nanopartikel Perak. *Jurnal Biologi Makassar Volume 7 Nomor 1, Januari-Juni Tahun 2022: 12-20*.
- Masykuroh, Athiah & Puspasari, Heny. (2022). Aktivitas Anti Bakteri Nano Partikel (NPP) Hasil Biosintesis Menggunakan Ekstrak Keladi Serawak *Alocasia*

macrorrhizos Terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli. Jurnal Biologi Makassar Volume 7 Nomor 1, Januari-Juni Tahun 2022: 76-85.

Muslami, Nur. (2021). *Uji Aktivitas Antioksidan Sediaan Gel Nanokoloid Perak Hasil Biosintesis Menggunakan Ekstrak Kulit Buah Jeruk Kunci (Citrus microcarpa Bunge)*. Karya Tulis Ilmiah tidak diterbitkan. Akademi Farmasi Yarsi Pontianak. Pontianak.

Notriawan, Doni., Nesbah., Ernis, Gustria., Fadhila, Muhammad Adeng., Wibowo, Risky Hadi., Pertiwi, Reza., & Ilfanisari, Vinolla. (2021). *Aktivitas Antibakteri Membran Nanokomposit Kitosan/Nanopartikel Perak. Alchemy: Journal Of Chemistry Volume 9 Nomor 1, Juni Tahun 2021: 26-31.*

Nurullita, Nadia Nia. (2021). *Potensi Ekstrak Kulit Jeruk Kunci (Citrus microcarpa Bunge) Sebagai Bioreduktor Dalam Sintesis Nanopartikel Perak*. Karya Tulis Ilmiah tidak diterbitkan. Akademi Farmasi Yarsi Pontianak. Pontianak.

Oktavia, Intan Nabilah & Sutoyo, Suyatno. (2021). *Review Artikel: Sintesis Nanopartikel Perak Menggunakan Bioreduktor Ekstrak Tumbuhan Sebagai Bahan Antioksidan. Universitas Negeri Surabaya Journal of Chemistry Volume 10 Nomor 1, Januari Tahun 2021: 9-43.*

Palogan, Afna Nur Afni., Sitinjak, Mutiara Nauli Br., Adjeng, Andi Nafisah Tendri., Pardilawati, Citra Yuliyanda., & Oktarlina, Rasmi Zakiah. (2023). *Potensi Minyak Atsiri Jeruk Kalamansi (Citrus microcarpa Bunge) Sebagai Antibakteri Alami: Tinjauan Pustaka. Agromedicine Journal Volume 10 Nomor 1, Tahun 2023: 154-158.*

Puspita, Rani Sintia. (2024). *Uji Stabilitas Aktivitas Antibakteri Terhadap Staphylococcus Aureus Gel Nanokoloid Perak Hasil Biosintesis Menggunakan Tanaman Keladi Sarawak (Alocasia macrorrhizos L.)*. Karya Tulis Ilmiah tidak diterbitkan. Akademi Farmasi Yarsi Pontianak. Pontianak.

Riani, Irma. (2021). *Analisis Cemaran Bakteri Escherichia coli Pada Bubur Bayi Home Industry Di Kabupaten Tulungagung Dengan Metode ALT Dan MPN*. Skripsi tidak diterbitkan. STIKES Karya Putra Bangsa. Tulungagung.

Sachara, Fuji & Prasetyo, Budi. (2024). *Pemilihan Jenis Pelarut Ekstraksi pada Pengujian Potensi Antibiotik Neomisin Krim. Jurnal Farmamedika (Pharmamedica Journal) Volume 9 Nomor 1, Juni Tahun 2024: 114-121.*

Siddiqi, Khwaja Salahuddin., Husein, Azamal., & Rao, Rifaqat A.K. (2018). *A Review on Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Their Biocidal Properties. Journal of Nanobiotechnology Volume 16 Nomor 14, Tahun 2018: 1-28.*

Triola, Mario F. (2018). *Essentials of Statistics (6th ed.)*. Pearson Education.

- Utomo, Suryadi Budi., Fujiyanti, Mita., Lestari, Warih Puji., & Mulyani, Sri. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa C-4-Metoksifenilkaliks Resorsinarena Termodifikasi Hexadecyltrimethylammonium-Bromide Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JKPK (Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia)*, Volume 3, Nomor 3, Desember Tahun 2018: 201-209.
- Wahyuni, Yana Sri. (2020). *Respon Jeruk Kasturi (Citrus microcarpa Bunge) dengan Pemberian Kinetin dan NAA Secara In-vitro*. Skripsi tidak diterbitkan. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau. Pekanbaru.
- Wijaya, Galang Haedi., Sutiarno, Sutiarno., Karokaro, Pulung., Syafriadi, Syafriadi., Gintin, Pariaman., & Riyanto, Agus. (2022). Pengaruh Variasi Ion Ag^+ terhadap Pembentukan Biofoam Antibakteri Berbasis Pati Singkong dan Selulosa Batang Jagung. *Jurnal Phi: Jurnal Pendidikan Fisika dan Fisika Terapan* Volume 3 Nomor 2, Juni Tahun 2022: 49-61.
- Wulandari, Sri., Nisa, Yonita Sholihatun., Taryono., Indarti, Siwi., & Sayekti, Rr. Rahmi Sri. (2021). Sterilisasi Peralatan dan Media Kultur Jaringan. *Agrinova: Journal of Agrotechnology Innovation* Volume 4 Nomor 2, Tahun 2021: 16-19.
- Yurisa & Wibowo, Muhamad Agus. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Sambal (*Citrus x hystryx*) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal of Pure and Applied Chemistry* Volume 2 Nomor 2, Juli Tahun 2019: 55-62.
- Zhang, X. F., Z. G. Liu., W. Shen, & S. Gurunathan. (2016). Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. *International Journal of Molecular Sciences* Volume 17 Nomor 1534, September Tahun 2016:1-34.
- Zheng, Khaiyuan., Setyawati, Magdiel Inggrid., Leong, David Tai., & Xie, Jianping. (2018). Antimicrobial silver nanomaterials. *Coordination Chemistry Reviews* Volume 357, Tahun 2017: 1-17.