# BAB II

#  TINJAUAN PUSTAKA

* 1. **Uraian Tumbuhan**
1. **Klasifikasi Daun Bidara**

Klasifikasi ilmiah dari *Ziziphus spina-christi*. Menurut Herbarium Medanense (MEDA) Universitas Sumatera Utara, sebagai berikut:

Kerajaan :Plantae

Divisi :Spermatophyta

Kelas :Dicotyledoneae

Ordo :Rosales

Famili :Rhamnaceae

Genus :*Ziziphus*

Spesies :*Ziziphus spina-christi*

 

**Gambar 2.1** Daun Bidara(*Ziziphus spina-christi*)

*Ziziphus spina-christi* merupakan tumbuhan yang masuk ke dalam jenis pohon kecil dengan daun berwarna hijau, dan juga merupakan pohon penghasil buah. Tumbuhan ini dapat dijumpai di daerah Afrika Utara serta Asia Barat. Bidara mampu bertahan hidup di daerah lembah dengan ketinggian kurang lebih 500 m. Tumbuhan ini di wilayah Indonesia banyak dijumpai di Sumbawa (Nusa Tenggara Barat) (Asy'syifa dkk., 2020).

1. **Morfologi Daun Bidara**

Bidara (*Ziziphus spina-christi*) adalah tumbuhan yang dapat bertahan hidup pada lingkungan sedikit kering, dapat juga tumbuh di lahan yang memiliki tanah basa, tanah asin dan sedikit asam. Tinggi tumbuhan ini mencapai 1,5 m, memiliki perawakan batang yang tumbuh tegak dan juga menyebar dengan cabang menjuntai. Bidara termasuk tanaman yang di batangnya terdapat duri, durinya terletak pada ranting. Daunnya berwarna hijau atau setengah menguning. Tumbuhan bidara memiliki batang, akar, bunga, buah, dan daun (Raharjeng dan Anis, 2020).

1. **Kandungan Kimia Daun Bidara**

Berdasarkan penelitian Darussman, dkk (2020) menyatakan bahwa ekstrak daun bidara memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat digunakan dalam pengobatan alternatif pada demam, nyeri, ketombe, luka dan bisul, kondisi peradangan, asma, dan untuk menyembuhkan penyakit mata. Hasil analisis kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun bidara (*Ziziphus spina-christi*) menunjukkan bahwa daun bidara mempunyai kandungan alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, dan tannin (Safrudin & Nurfitasari, 2018).

Kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen dapat dipengaruhi dari metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman. Hasil uji penapisan fitokimia ekstrak etanol daun bidara menunjukkan bahwa daun bidara mengandung metabolit sekunder seperti tannin, steroid, saponin dan flavonoid. Diketahui juga bahwa metabolit sekunder ini memiliki sifat antioksidan dan antibakteri. Mekanisme antibakteri saponin adalah meningkatkan permeabilitas sel atau kerusakan sel, sehingga senyawa yang ada di dalam bakteri akan keluar. Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel, kemudian mengikat dengan membran sitoplasma, mengurangi stabilitas. Hal ini menyebabkan pelepasan sitoplasma di dalam seluler, yang dapat menyebakan ke apoptosis (Muharrami et al., 2019).

Saponin dapat berperan sebagai antibakteri karena dapat membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen. Tujuannya untuk membunuh sel bakteri dengan mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri (Muharrami et al., 2019). Sedangkan, mekanisme dari flavonoid yang bekerja sebagai antibakteri ialah dengan menghambat dari sintesis asam nukleat sehingga memblokir pertumbuhan dari sel bakteri dan berakhir dengan matinya bakteri tersebut. Tanin bekerja sebagai antibakteri dengan cara memberikan reaksi pada membrane sel yaitu dengan menginaktivasi enzim atau menghambat sintesis enzim, sehingga dapat menyebabkan hilangnya viabilitas serta menyebabkan lisisnya sel bakteri (Hasanah, 2019).

1. **Khasiat Daun Bidara**

Daun bidara dapat berkhasiat sebagai analgetika antipiretik akibat kandungan flavanoid yang bekerja melalui dua mekanisme dalam mengambat faktor peradangan. Mekanisme pertama dengan menghambat enzim siklooksigenase yang mengakibatkan pembentukan prostaglandin sebagai salah satu mediator timbulnya nyeri dan demam tidak terjadi, mekanisme kedua dengan hambatan terhadap degranulasi netrofil yang berakibat penghambatan pelepasan sitokin, radikal bebas serta enzim yang berperan pada proses inflamasi (Hermawati et al., 2022).

Selain itu penelitian terdahulu terhadap fraksi n-heksana dan etanol daun bidara menemukan adanya senyawa alkaloid, saponin, triterpenoid dan steroid yang memiliki efek sitotoksik sebagai antikanker dimana diketahui bahwa senyawa-senyawa tersebut menghasilkan senyawa reduksi yang dikenal dengan nama kuersetin. Kuersetin yang tergolong antioksidan ini memiliki aktivitas terhadap reseptor proto-onkogen proteintirosin kinase dan uridin 5-monofosfat sintase. Sebagai reseptor obat-obatan antikaner yang pada akhirnya dapat melakukan inhibisi terhadap DNA topoisomerase pada sel kanker yang berakibat penghambatan pertumbuhan sel kanker.

Khasiat sebagai antidepresan pada daun bidara akibat kandungan alkaloid dan flavanoid yang mampu menghambat kerja dari mono-amin-oksidase sehingga menghambat degradasi neurotransmiter syaraf pusat seperti serotonin dan katekolamin yang efeknya pada otak menimbulkan potensi stimulasi susunan saraf pusat yang menghambat terjadinya depresi. Memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, hal ini berkat kandungan flavanoid yang terkandung di dalamnya. Flavanoid merupakan senyawa pereduksi yang dapat menghambat banyak reaksi oksidasi dengan cara mentransfer senyawa elektron pada senyawa radikal bebas sehingga senyawa radikal bebas menjadi stabil dan tidak terjadi reaksi oksidasi. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Noviasari RW menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan daun bidara lebih tinggi dibandingkan dengan vitamin (Siregar, 2020).

Aktivitas antidiabetik ekstrak daun bidara diperoleh melalui mekanisme penghambatan enzim-enzim pemecah karbohidrat menjadi glukosa yang terdapat di saluran cerna, dua golongan enzim yang dihambat ialah α-Amilase dan α- Glukosidase. Golongan enzim α-Amilase diproduksi oleh kelenjar saliva dan pankreas yang fungsi utamanya adalah memecah amilum (amilase saliva) dan memecah glikogen (amilase pankreas), penghambatan aktivitasnya akan menghambat pemecahan karbohidrat di saluran cerna dan dalam tubuh serhingga mempengaruhi ketersedian glukosa dalam plasma darah. Golongan α- Glukosidase didalamnya terdapat maltase, isomaltase, glukomaltase, dan sukrase memiliki fungsi menghidrolisis oligosakarida yang masuk ke usus halus sehingga apabila dihambat akan mempengaruhi pencernaan karbohidrat dan absorbsinya sehingga dapat mencegah peningkatan kadar glukosa darah setelah makan (Siregar, 2020).

Tumbuhan bidara terkenal memiliki sifat antidiabetes, antiinflamasi, antiplasmodial, dan antimikroba, serta sifat hemolitik, sedatif, anxiolytic, diuretik, analgesik dan antioksidan (Akhtar dkk, 2016).

1. **Simplisia**

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun kecuali dinyatakan lain, simplisia berupa bahan yang dikeringkan (Ditjen POM, 2000).

Simplisia dapat digolongkan dalam 3 kategori, yaitu:

1. Simplisia nabati, simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia
2. Simplisia hewani, simplisia yang berupa hewan atau bagian hewan zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia
3. Simplisia pelikan/mineral, simplisia yang berupa bahan-bahan pelikan/mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia (Ditjen POM, 1995).

Pada umumnya pembuatan simplisia melalui tahapan sebagai berikut:

a. Pengumpulan bahan baku

Kadar bahan aktif dalam simplisia bergantung pada bagian tanaman yang digunakan, usia tanaman atau bagian tanaman saat panen, waktu panen dan lingkungan tumbuh.

b. Sortasi basah

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan cemaran (kotoran dan bahan asing lain) dari bahan simplisia. Pembersihan simplisia dari tanah dapat mengurangi jumlah kontaminasi mikrobiologi.

c. Pencucian simplisia

Pencucian simplisia bertujuan melepaskan kotoran (tanah, debu, kotoran lainnya) yang melekat pada tanaman obat sehingga mikroba atau kotoran yang dapat merusak dan mengubah komposisi zat pada tanaman dapat dihilangkan. Proses pencucian dilakukan dengan cara mengalirkan air bersih pada simplisia sehingga kotoran dapat terlarut dan langsung terbuang. Kualitas air yang digunakan untuk membersihkan simplisia harus air bersih yang digunakan untuk membersihkan simplisia harus air bersih yang tidak mengandung mikroba dan logam. Air yang disarankan untuk digunakan adalah air tanah (air sumur atau mata air) yang bersih atau air dari perusahaan air minum (PAM).

Pencucian simplisia dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut.

1. Perendaman

Perendaman merupakan cara yang sering dipakai untuk mencuci bahan baku obat herbal (simplisia). Caranya dengan merendam simplisia dalam air. Perendaman tidak boleh dilakukan terlalu lama agar bahan berkhasiat pada tanaman yang mudah larut dalam air tidak tercuci dan hilang begitu saja.

2. Penyemprotan

Membersihkan simplisia dengan cara penyemprotan biasanya dilakukan pada simplisia yang berasal dari umbi yang tumbuh didalam tanah. Hal ini disebabkan tanah mudah melekat pada lekukan-lekukan umbi yang tumbuh di dalam tanah. Karena itu, umbi perlu disemprot dengan air agar kotoran atau tanah dapat terlepas dari lekukan umbi tersebut.

3. Penggosokan (penyikatan)

Penggosokan (penyikatan) bertujuan untuk membuang kotoran yang menempel dan susah dihilangkan pada simplisia. Penggosokan dilakukan dengan menggunakan sikat lembut atau kain sambil merendam simplisia didalam air. Hal yang perlu diperhatikan adalah jangan sampai penyikatan menggores atau merusak simplisia sehingga kualitas simplisia menurun. setelah bersih, simplisia ditiriskan ditempat teduh dengan cara menghamparkannya di tikar, para-para atau kawat kasa sambil dibolak-balik.

d. Perajangan

Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Tanaman yang baru dipanen, sebelum dirajang, terlebih dahulu dijemur dalam keadaan utuh selama 1 hari. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau atau mesin perajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran tertentu.

e. Pengeringan simplisia

Pengeringan simplisia bertujuan mengurangi kadar air simplisia sehingga simplisia tidak mudah rusak, berjamur, atau kandungan bahan aktif berubah jika disimpan dalam waktu cukup lama. Sebelum proses pengeringan, simplisia seperti rimpang, batang, atau kulit kayu dipotong kecil-kecil untuk mempercepat proses pengeringan. Simplisia berupa rimpang biasanya diiris dengan ketebalan 5-7 mm menggunakan pisau stainlees steel atau mesin perajang. Batang dipotong-potong sebelum dikeringkan, sedangkan kulit kayu dipecah-pecah menjadi ukuran yang lebih kecil.

Pengeringan dapat dilakukan dengan beberapa cara sebagai berikut.

1. Pengeringan secara alami

Pengeringan secara alami dilakukan dengan menjemur simplisia di bawah matahari langsung. Simplisia ini dihamparkan merata setipis mungkin dengan alas tikar atau plastik dengan sambil sering dibalik agar keringnya merata. Cara ini merupakan cara yang paling mudah dari segi biaya karena relatif murah. Kekurangan cara ini adalah jika terjadi perubahan cuaca mendadak atau panas yang berlebih, kualitas simplisia yang diperoleh tidak begitu baik karena pengeringan yang tidak stabil. Cara ini cocok digunakan untuk simplisia rimpang, biji, batang atau akar. Untuk mengatasi pengeringan secara alami yang kurang sempurna telah direkomendasikan alat baru yang menggunakan tenaga matahari agar kualitas simplisia tetap terjaga. Alat tersebut berupa adalah lemari dengan rak-rak pengering yang dapat memberikan panas yang cukup pada simplisia sekaligus melindungi simplisia dari kelembaban udara karena hanya mengalirkan udara kering kedalam ruang antar rak. Dengan alat ini, panas matahari mencapai simplisia yang dikeringkan melalui kaca hitam sehingga dapat menyaring sinar ultra violet yang mungkin merusak kandungan berkhasiat simplisia tersebut.

2. Pengeringan secara buatan

Pengeringan secara buatan dilakukan dengan menggunakan mesin pemanas (oven) bertenaga listrik atau diesel. Kelebihan pengeringan menggunakan mesin ini, di antaranya panas yang dihasilkan lebih stabil sehingga pengeringan lebih terkontrol, waktu pengeringan tidak tergantung pada kondisi cuaca, proses pengeringan lebih cepat, kualitas yang dihasilkan lebih baik. Namun, pengadaan alat ini membutuhkan biaya yang cukup besar sehingga hanya dipakai oleh perusahaan jamu yang sudah salam skala besar. Beberapa simplisia memiliki kekhususan cara pengeringan untuk mempertahankan kandungan bahan khasiatnya.

f. Sortasi kering

Sortasi setelah pengeringan merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi adalah untuk memisahkan benda asing seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor lain yang masih ada atau tertinggal pada simplisia kering. Proses ini dilakukan sebelum pengemasan simplisia.

g. Pengepakan dan Penyimpanan Simplisia

Proses penyimpanan simplisia terdiri dari dua tahap yaitu pengemasan dan penyimpanan bahan simplisia.

Penyimpanan dapat dilakukan seperti dibawah ini.

1. Pengemasan dan pemberian label

 Pengemasan bertujuan melindungi simplisia dari kotoran atau cemaran sehingga simplisia tidak mengalami kerusakan selama penyimpanan, pengangkutan atau pengiriman ketempat pemasaran. Sementara itu, pemberian label pada kemasan bertujuan agar bahan di dalam sebuah kemasan tidak tertukar dengan bahan dalam kemasan lain. Selain itu, pelabelan memberikan informasi beberapa lama simplisia tersebut telah disimpan.

1. Penyimpanan

Secara berkala simplisia diperiksa kualitasnya. Apabila diperlukan simplisia yang telah rusak disortir kembali dan diganti kemasannya. Simplisia yang digunakan adalah simplisia yang telah lebih dahulu disimpan. Setelah kemasan dan diberi label, simplisia dapat disusun dalam rak-rak di ruang penyimpanan. Berikut persyaratan ruang penyimpanan yang harus dipenuhi.

1. Memiliki sirkulasi udara yang baik,
2. Memiliki suhu, kelembaban, dan penerangan yang cukup sehingga tidak merusak simplisia yang disimpan,
3. Mampu melindungi simplisia dari perubahan cuaca ekstrem (sangat panas atau sangat dingin) dan kelembaban berlebih
4. Melindungi simplisia dari serangga dan hewan pengganggu yang dapat merusak simplisia (Sudewo, B. 2009).
5. **Ekstraksi**

Ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Dengan diketahui senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dengan cara yang tepat (Ditjen POM, 2000).

1. **Ekstrak**

Ekstrak adalah sediaan cair, kental atau kering 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 sehingga memenuhi baku yang telah ditentukan. Ekstrak cair diperoleh dari ekstraksi yang masih mengandung sebagian besar cairan penyari. Ekstrak kental akan didapat apabila sebagian besar penyari diuapkan, sedangkan ekstrak kering akan diperoleh jika sudah tidak mengandung cairan penyari (Ditjen POM, 2014).

1. **Metode Ekstraksi**

1. Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi merupakan proses pengekstrakan simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali perendaman dan pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif, kemudian zat aktif didalam sel dan diluar sel larutan terpekat keluar. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus menerus). Remaserasi dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserasi pertama.

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru sampai penyarian sempurna dan umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses ini terdiri dari tahapan pelembaban bahan, tahap pendiaman dan tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak) yang terus menerus sampai ekstrak yang diinginkan habis tersari. Tahapan pelembaban bahan dilakukan menggunakan cairan penyari sekurang-kurangnya 3 jam, hal ini penting terutama untuk serbuk yang keras dan bahan yang mudah mengembang (Ditjen POM, 2000).

2. Cara Panas

a. Refluks

Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan penanggulangan proses pada residu pertama 3 - 4 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

b. Sokletasi

Sokletasi merupakan ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru. Umumnya dilakukan dengan alat khusus (soklet) sehingga ekstraksi kontinu dengan jumlah relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digesti

Digesti merupakan maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum

dilakukan pada temperatur 40-50 ˚C.

d. Infudasi

Infundasi merupakan ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih). Temperatur terukur 96- 98˚C selama waktu tertentu (15 – 20 menit).

e. Dekoktasi

Dekoktasi merupakan infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air, yakni 30 menit pada suhu 90-100˚C (Ditjen POM, 2000).

* 1. **Nanopartikel Perak**
	2. **Definisi Nanopartikel Perak**

Nanoteknologi adalah bidang ilmu pengetahuan dan teknologi yang paling maju dan berkembang pesat. Ini terutama berkaitan dengan pengembangan kebaruan dalam bahan nano dengan memahami dan mengendalikan materi pada tingkat skala nano. Nanopartikel perak (AgNPs) adalah nanopartikel paling menonjol yang digabungkan dengan aplikasi yang luas, karena karakteristiknya yang berbeda (Khan et al., 2023). Bahan nano memiliki keunggulan yang signifikan dalam fisika dan sifat kimia, seperti efek ukuran kuantum, efek permukaan dan efek terowongan kuanta makro yang ditentukan oleh skala tiga dimensi, struktur khusus dan struktur permukaan (Cai et al., 2018). Untuk alasan-alasan ini, bahan berskala nano telah lama diminati. Nanopartikel perak (AgNPs) telah menjadi salah satu bahan yang paling populer dan telah dieksplorasi oleh struktur nano yang diturunkan dari nanoteknologi dalam beberapa dekade terakhir. AgNPs adalah partikel yang terdiri dari perak sederhana dengan diameter 1–100 nm dan memiliki spesifisitas tinggi luas permukaan, aktivitas permukaan, energi permukaan, dan kinerja katalitik. Dibandingkan dengan perak biasa, AgNP lebih kuat sifat antibakteri, resistensi non-obat, dan karakteristik lainnya (Nie et al., 2023).

Banyak metode yang dapat digunakan untuk sintesis partikel nano perak (Ag-NPs) termasuk prosedur kimia, fisika, fotokimia, dan biologi. Pemilihan salah satu metode ini dalam hal biaya, skalabilitas, ukuran partikel, dan distribusi ukuran harus dipertimbangkan. Secara umum, metode kimia memberikan cara mudah untuk mensintesis partikel nano dalam larutan. Sintesis kimiawi dari Ag-NPs, sebagai contoh, dalam larutan biasanya menggunakan prekursor logam, zat pereduksi, dan zat penstabil atau capping.

 ****

**Gambar 2.2** Mekanisme reduksi ion Ag

Pembentukan larutan koloid untuk reduksi garam perak melibatkan dua tahap: (1) nukleasi dan (2) pertumbuhan selanjutnya, yang menentukan ukuran dan bentuk partikel nano. Tahapan ini dapat dikontrol dengan mengatur parameter, seperti suhu reaksi, nilai pH, prekursor, jenis reduksi, dan zat penstabil.

Berdasarkan dari K. R. Lestari, (2021) bahwa menyatakan Ag-NP bulat dengan ukuran yang dapat dikontrol dapat disintesis dengan menggunakan proses poliol (Dang et al. 2012; Tran, Nguyen & Le 2013).

Dalam prosedur umum, empat langkah berikut dapat digunakan:

1. Polivinilpirolidon dalam jumlah tertentu (digunakan sebagai pengontrol ukuran dan zat penutup) dilarutkan dalam 20 mL etilen glikol (bertindak sebagai pelarut dan zat pereduksi).
2. AgNO3 ditambahkan ke dalam larutan untuk mendapatkan sekitar 10% berat perak konsentrasi dalam larutan yang disintesis.
3. Probe ultrasonik dibenamkan ke dalam larutan campuran untuk waktu yang optimal sekitar 3 menit atau sampai larutan kuning pucat berubah menjadi coklat tua, yang menunjukkan pembentukan partikel perak.
4. Larutan kental harus diencerkan untuk berbagai analisis dalam etanol dengan dispersi ultrasonik yang lembut.
5. **Metode Sintesis Nanopartikel Perak**

Nanopartikel merupakan dengan rentang ukuran partikel primernya (partikel tunggal) kurang dari 100 nm (Ivan Fadillah & Anggi Arumsari, 2022).

Dalam nanoteknologi, sintesis AgNP dikategorikan sebagai metode kimia, fisik, dan biologis. Diantaranya, ada dua pendekatan sintetis untuk nanopartikel logam: top-down dan bottom-up. Dalam pendekatan top-down, bahan curah yang sesuai dipecah menjadi partikel halus dengan pengurangan ukuran dengan teknik yang berbeda. Dalam pendekatan bottom-up, melalui metode kimia dan biologi, nanopartikel dapat disintesis dengan fenomena self-assembly atom menjadi inti baru yang tumbuh menjadi partikel berukuran nano. Oleh karena itu, orang dapat merancang bentuk sintetik yang dikendalikan dari bahan nano tertentu dan membangun struktur nano atom atau molekul dengan menganalisis struktur reaktan dan produk target (Ijaz et al., 2020).

1. Metode kimia

a. Reduksi kimia

Reduksi kimia adalah salah satu metode yang umum, dan diperlukan reduktor untuk mengubah Ag+ menjadi AgNPs. Reduktor umum seperti sitrat, asam askorbat, natrium borohidrida dan kopolimer blok berperan dalam memastikan stabilitas AgNPs. Proses pembentukan AgNP dimulai dengan membangkitkan atom perak netral yang digunakan sebagai prekursor pembentukan ion perak. Semakin banyak atom berkumpul, mereka membentuk kluster yang dapat mengontrol bentuk dan ukuran AgNP yang terbentuk.

Ketika metode reduksi kimia diselidiki, keuntungan dari metode reduksi kimia menjadi jelas. Keuntungan terbesar dalam pendekatan ini adalah sejumlah besar nanopartikel dapat disintesis dengan mudah. Namun demikian, ada beberapa kekurangan dari metode reduksi kimiawi untuk mensintesis AgNPs. Prekursor logam, reduktor, dan zat penstabil/penutup, seperti polivinilpirolidon, diperlukan untuk memastikan koloid yang disintesis secara kimiawi stabil, yang semuanya ada dalam larutan sintetik. Substrat dan larutan limbah kimia berbahaya bagi manusia. namun, mengingat biaya rendah, pengoperasian sederhana, kemudahan, dan faktor lainnya, metode reduksi kimia masih menjadi salah satu metode yang paling banyak digunakan.

b. Pirolisis

Ultrasonic spray pirolisis mampu mensintesis nanopartikel dengan ukuran partikel yang terkontrol dan seragam. Pembuatan aerosol dari larutan encer garam logam menggunakan pirolisis semprotan ultrasonik menghasilkan partikel dengan distribusi ukuran yang sempit. Dalam lingkungan bebas oksigen, Ag+ direduksi dengan memanaskan material hingga suhu 600–1000˚C untuk mensintesis AgNPs. Oleh karena itu, pirolisis semprotan ultrasonik dianggap sebagai rute langsung untuk mensintesis AgNPs. Selain itu, ukuran partikel AgNP tergantung pada ukuran tetesan aerosol (Yusuf, 2019).

2. Metode fisik

Energi listrik, energi cahaya, microwave plasma dan evaporasi- kondensasi adalah metode fisik umum untuk mensintesis AgNP yang digunakan untuk menguraikan media sintetik untuk menghasilkan zat pereduksi (O2-, etanol, etilen glikol) yang bereaksi dengan ion perak untuk disintesis. AgNPs. Orang dapat mengontrol kondisi reaksi untuk mensintesis AgNP dengan ukuran partikel berbeda. Tidak ada kontaminasi pelarut dalam proses ini, dan distribusi nanopartikel yang disintesis bersifat homogen. Namun, sintesis fisik AgNPs juga memiliki beberapa kelemahan, seperti konsumsi energi dan kebutuhan konsentrasi yang tinggi. Proses sintetik ini dapat dianggap sebagai penguraian media sintetik untuk menghasilkan AgNP. Salah satu syarat utama untuk sintesis AgNPs adalah media sintesis (pelarut organik atau air). Etanol, etilen glikol, dan sejenisnya adalah pelarut organik yang umum. Karena biayanya yang rendah, keamanannya, dan kapasitas panasnya yang tinggi, air suling atau deionisasi adalah media cair yang paling sering digunakan.

3. Metode biologis

Karena beberapa kelemahan dari sintesis fisika dan kimia bahan nano, ada permintaan yang meningkat untuk pengembangan metode sintetik yang ramah lingkungan. Sebagai cabang utama dari nanoteknologi, sintesis hijau (green synthesis) AgNP sedang berkembang. Kimia sintetik hijau mengacu pada metode sintesis kimia yang tidak menggunakan polutan dari sumbernya melalui penelitian dan pengembangan ilmiah. Kimia sintetik hijau memenuhi kebutuhan sintesis bahan nano yang sederhana dan andal tanpa menggunakan bahan kimia beracun, merupakan aspek penting dari nanoteknologi. Arah utama metode hijau adalah mensintesis nano-perak menggunakan bahan baku dan reagen yang sesuai dengan konsep kimia hijau. Biosintesis AgNP sejalan dengan konsep kimia hijau. Bagian ini terutama mengulas sintesis nanopartikel perak berkinerja tinggi dengan menggunakan mikroorganisme, kaldu fermentasi biologis, atau ekstrak tumbuhan (Dikshit et al., 2021).

a. AgNP yang disintesis secara mikrobiologis

Menggunakan jamur, bakteri, ganggang, ragi, dan bahkan cairan fermentasi juga dapat dikategorikan sebagai sintesis mikrobiologi AgNPs. Sintesis mikroba dapat terjadi baik secara intraseluler maupun ekstraseluler. Sintesis AgNPs intraseluler seringkali membutuhkan penggunaan agen lisis sel dan gelombang akustik untuk mendapatkan AgNPs, sedangkan sintesis AgNPs ekstraseluler tidak memerlukan agen dan gelombang akustik tersebut. Oleh karena itu, sintesis AgNP ekstraseluler lebih umum dan praktis.

Mekanisme yang mendasari sintesis AgNP yang disintesis secara mikrobiologi dapat diprediksi. Jalur sintetis yang mungkin untuk AgNP ekstraseluler yang disintesis dapat dipahami sebagai berikut: beberapa mikroorganisme dapat melepaskan reduktase ke dalam larutan, dan reduktase dapat mereduksi ion perak menjadi AgNP yang sesuai. Pada saat yang sama, protein terkait dapat memainkan peran menstabilkan. Dengan demikian, AgNP menempel pada permukaan mikroorganisme, membentuk AgNP ekstraseluler. Jalur lain adalah memisahkan mikroorganisme dari larutan setelah melepaskan massa reduktase. Di sini, reduktase mereduksi ion perak menjadi AgNPs, yang ukuran partikelnya relatif kecil dibandingkan dengan metode sebelumnya. Selain itu, sintesis AgNP intraseluler jarang terjadi dan terjadi terutama pada jamur. Namun, jamur dapat mensintesis AgNP ekstraseluler atau intraseluler, dan sebagian besar AgNP yang disintesisnya adalah ekstraseluler. Meskipun demikian, metode sintesis ini tidak universal. Jalur sintesis AgNPs intraseluler relatif jelas: ion logam terperangkap di permukaan jamur melalui interaksi elektrostatik dengan gugus karboksil bermuatan negatif. Dalam enzim sitoderm miselium. Selanjutnya, ion logam direduksi oleh enzim di dalam sitoderm; ini mengarah pada agregasi ion logam dan membentuk partikel nano.

Beberapa nanopartikel yang dihasilkan menembus sitoderm dan mengalami reduksi oleh enzim yang terdapat pada membran sitoplasma dan sitoplasma, sedangkan nanopartikel yang lebih kecil menembus sitoderm dan terperangkap di dalam sitoplasma. Oleh karena itu, mekanisme sintesis AgNPs mikroorganisme semakin banyak diteliti setelah pemahaman tentang jalur sintetik AgNPs. Penelitian sebelumnya menggunakan Penicillium citreonigrum mensintesis AgNP ekstraseluler. Hasil berdasarkan mikrograf TEM yang digunakan untuk mengamati AgNP ekstraseluler menunjukkan bahwa mayoritas AgNP berbentuk bulat dan ukurannya berkisar antara 10 hingga 50 nm. digunakan Fusarium moniliforme untuk mensintesis AgNP intraseluler. Ada 10-50 nm AgNP yang terdeteksi di dalam sel, yang ada di dinding sel dan membran sitoplasma. menggunakan Talaromyces purpurogenus untuk mensintesis AgNP secara ekstraseluler. Bentuk nanopartikel adalah bulat, heksagonal, batang, dan segitiga dengan ukuran partikel berkisar antara 4 hingga 41 nm menggunakan bakteri laut *Idiomarina sp*. PR58–8, untuk mensintesis AgNPs secara intraseluler ukuran AgNP sekitar 26 nm.

Karena mikroorganisme sangat mudah beradaptasi, tumbuh cepat, dan berlimpah, serta memiliki persyaratan rendah untuk kondisi pertumbuhan (suhu, oksigenasi, dan waktu inkubasi), lebih banyak peneliti yang fokus mempelajari bakteri yang digunakan untuk mensintesis nanopartikel. Sintesis mikroba dari bahan nano mungkin akan menjadi arus utama di masa depan.

b. Penggunaan tumbuhan atau ekstrak tumbuhan untuk mensintesis AgNPs

Senyawa fitokimia alami seperti terpenoid, flavonoid, alkaloid, fenol, keton, aldehida, amida, dan asam karboksilat merupakan antioksidan yang efektif. Ini adalah sumber agen pereduksi dan penstabil yang baik untuk sintesis partikel nano. Selanjutnya, flavonoid dapat menghambat pelepasan enzim biologis inflamasi, meningkatkan penyembuhan luka dan meredakan nyeri, meningkatkan sirkulasi darah, serta menurunkan gula darah dan lipid darah. AgNPs disintesis menggunakan ekstrak tumbuhan hijau (*Prunus persica*), kunyit, *Boerhaavia diffusa*, dan lain-lain. Dapat memiliki sifat ekstrak tumbuhan dan AgNPs, mengerahkan efek sinergisnya. Menggunakan tumbuhan dan ekstrak tumbuhan untuk mensintesis AgNPs telah berkembang menjadi bioteknologi inovatif yang signifikan.

Lebih banyak penelitian telah menunjukkan bahwa dengan memilih ekstrak tumbuhan yang berbeda untuk mensintesis AgNP, sifat AgNP yang disintesis berbeda, terutama tergantung pada sifat tanaman atau ekstrak tumbuhan. menggunakan daun hijau *Punica granatum* untuk mensintesis AgNPs. Sebagian besar AgNP standar berbentuk bulat, dengan kisaran ukuran 20- 45 nm, meskipun beberapa variabel. Mensintesis AgNPs, menggunakan ekstrak antosianin yang berasal dari kemangi ungu (AE-AgNPs). Ukuran rata-rata AE-AgNPs adalah sekitar 41,85 nm.

Dalam proses sintesis nanopartikel, metode kimia dan fisika memiliki beberapa kelemahan. Penggunaan pelarut tertentu dalam proses kimiawi dengan reaksi tertentu dapat menghasilkan limbah berbahaya yang dapat membahayakan kehidupan. Metode fisika seperti ablasi laser, misalnya, juga dapat menjadi masalah karena mengkonsumsi banyak energi. Oleh karena itu, sebuah metode yang ramah lingkungan harus dikembangkan. Biosintesis dari limbah hewan atau ekstrak tanaman adalah salah satu metode sintesis nanopartikel yang murah, efisien, dan ramah lingkungan.

1. **Karakterisasi Nanopartikel Perak**

Nanopartikel adalah partikel yang memiliki ukuran kurang dari 100 nanometer (Willian et al., 2023). Nanopartikel perak merupakan salah satu jenis nanopartikel yang memiliki sifat fisik dan biologis unik yang menarik minat penelitian karena aplikasinya yang menjanjikan.

Nanopartikel perak dapat dikarakterisasi menggunakan berbagai teknik, seperti spektroskopi UV-Vis, spektroskopi Fourier Transform Infrared (FTIR), X-ray diffraction (XRD), Transmission Electron Microscopy (TEM) dan Particle Size Analyzer (PSA). Spektroskopi UV-Vis dapat digunakan untuk menentukan puncak serapan nanopartikel perak, yang biasanya berkisar antara 400- 450 nm karena fenomena Surface Plasmon Resonance (SPR) (Willian et al., 2023). Spektroskopi FTIR dapat digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi dari biomolekul yang terlibat dalam sintesis nanopartikel perak (Rahmayani et al., 2019). XRD dapat digunakan untuk menentukan struktur kristal dan ukuran nanopartikel perak (Wendri, 2017). PSA dapat digunakan untuk mengetahui ukuran diameter dan distribusi nanopartikel perak dalam sampel.

Pada penelitian lain, nanopartikel perak disintesis menggunakan reduksi kimiawi dengan natrium sitrat sebagai reduktor dan iradiasi gelombang mikro untuk mempercepat proses sintesis. Nanopartikel perak yang dihasilkan memiliki ukuran rata-rata 56,2 nm dan stabil hingga 41 hari penyimpanan. Nanopartikel perak tersebut kemudian diaplikasikan pada kain katun sebagai antibakteri dan menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *P.aeruginosa* dengan Konsentrasi Hambat Minimum 70 % (Ivan Fadillah & Anggi Arumsari, 2022).

1. **Spektrofotometer UV-Vis**

Spektrofotometer UV-Vis adalah salah satu alat yang digunakan untuk karakteristik suatu material. Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk analisis kualitatif ataupun kuantitatif suatu senyawa.

Spektrofotometer UV-Vis memiliki prinsip kerja yaitu serapan dan radiasi cahaya atau elektromagnetik yang dianggap seperti gelombang. Molekul-molekul yang sesuai dengan struktur elektroniknya akan menyerap cahaya yang jatuh pada senyawa tersebut (Underwood, 2002).

Didalam bidang nanosains dan nanoteknologi analis spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk memprediksi ukuran dan bentuk nanopartikel. Selain itu analis absorbansi ini juga merupakan jenis analisis tercepat dan termudah untuk mengetahui bagaimana pembentukan nanopartikel. Nanopartikel memiliki sifat optis yang sensitif terhadap ukuran, bentuk, konsentrasi, aglomerasi dan indeks reflektif yang mendekati permukaan nanopartikel sehingga spektrofotometer UV-Vis dalam identifikasi, karakterisasi dan pengkajian material tersebut. Penyebaran nanopartikel bergantung pada panjang gelombang yang pendek tersebar intens (Faidah, 2019).

1. ***Particle Size Analyzer* (PSA)**

*Particle size analyzer* digunakan untuk menentukan ukuran rata- rata dari nanopartikel perak yang akan dikarakterisasi. PSA dengan metode Dynamic Light Scattering (DLS) dilakukan dengan memanfaatkan penyebaran inframerah. Penyebaran inframerah dilakukan dengan menembakkan inframerah pada sampel sehingga akan timbul reaksi berupa gerak Brown (gerak acak koloidal partikel akibat benturan dengan molekul-molekul yang terdapat dalam zat cair). Gerak Brown akan berbanding terbalik dengan ukuran partikel, semakin kecil ukuran partikel maka akan semakin besar/cepat gerak Brown yang akan ditimbulkan (Ivan, 2021).

* 1. **Bakteri**
1. **Definisi Bakteri**

Bakteri merupakan mikroba yang umumnya berbentuk uniseluler, tidak mempunyai inti sel tetapi mempunyai peptidoglikan. Didalam sitoplasma terdapat DNA maupun RNA dan struktur intra sel yang diperlukan untuk metabolisme, reproduksi secara aseksual melalui replikasi DNA dan pembelahan sel sederhana. Cara hidup bakteri ada yang dapat hidup bebas, parasitik, safrofitik, patogen pada manusia, hewan dan tumbuhan. Bakteri mempunyai bentuk dasar bulat, batang dan lengkung. Bentuk bakteri juga dapat dipengaruhi oleh umur dan syarat pertumbuhan tertentu. Bakteri dapat mengalami involusi, yaitu perubahan bentuk yang disebabkan faktor makanan, suhu dan lingkungan yang kurang menguntungkan bagi bakteri. Umumnya bakteri berukuran 0,5-10 µm (Ika P, 2016).

1. **Morfologi Bakteri**

Arti kata morfologi adalah pengetahuan tentang bentuk (morphos). Morfologi dalam cabang ilmu biologi adalah ilmu tentang bentuk organisme, terutama hewan dan tumbuhan mencakup bagian- bagiannya. Morfologi bakteri dapat dibedakan menjadi dua yaitu morfologi makroskopik (morfologi koloni) dan morfologi mikroskopik (morfologi seluler).

1. Morfologi makroskopis

Morfologi makroskopis yaitu bentuk bakteri dengan mengamati karakteristik koloninya pada lempeng agar. Karakteristik koloni dibedakan atas dasar bentuk koloni, ukuran koloni, pinggiran (margin koloni), peninggian (elevasi), warna koloni, permukaan koloni, konsistensi dan pigmen yang dihasilkan koloni. Populasi bakteri tumbuh sangat cepat ketika mereka ditambahkan dan disesuaikan dengan gizi dan kondisi lingkungan yang memungkinkan mereka untuk berkembang. Melalui pertumbuhan ini, berbagai jenis bakteri kadang memberi penampilan yang khas.

1. Morfologi mikroskopis

Morfologi mikroskopis adalah karakteristik bakteri yang dilihat melalui pengamatan dibawah mikroskop. Bentuk bakteri sangat bervariasi, tetapi secara umum ada 3 tipe, yaitu: bentuk bulat/kokus, bentuk batang/basil dan bentuk spiral/spirillum.

1. **Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri**

Menurut Cahya (2016), bakteri mengalami pertumbuhan sama halnya dengan makhluk hidup yang lain. Banyak faktor yang mempengaruhi pertumbuhan optimum bakteri. Faktor diantaranya adalah sebagai berikut.

1. Suhu

Suhu merupakan faktor lingkungan terpenting bagi kelangsungan hidup bakteri. Bakteri hidup dalam kisaran suhu tertentu. Kondisi suhu lingkungan yang keluar dari kisaran akan menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat dan mati. Suhu berpengaruh terhadap aktivitas enzim. Suhu yang terlalu rendah dapat menyebabkan aktivitas enzim menurun, sedangkan jika suhu terlalu tinggi maka dapat mendenaturasi protein enzim.

1. Derajat Keasaman/pH

pH mempengaruhi aktivitas enzim. Enzim akan mengkatalis reaksi lebih cepat pada pH optimum. pH optimum bagi sebagian besar bakteri adalah antara 6,5 dan 7,5. Terdapat juga mikroorganisme yang tumbuh pada keadaan yang sangat asam atau alkali.

1. Nutrisi

Setiap bakteri memerlukan nutrisi untuk pertumbuhannya. Sumber nutrisi yang dibutuhkan bakteri meliputi sumber energi Cahaya (fototrof) dan senyawa kimia (kemotrof); sumber karbon yng berupa karbon anorganik (karbondioksida) dan karbon organik seperti karbohidrat; sumber nitrogen dalam bentuk garam nitrogen anorganik seperti kalium nitrat dan nitrogen organic berupa protein dan asam amino; unsur logam seperti kalium, natrium, magnesium, besi, tembaga dan sebagainya; dan bakteri juga membutuhkan air.

1. Kelembaban

Bakteri memerlukan kelembaban yang cukup tinggi, yaitu sekitar 85%. Pengurangan kadar air dari protoplasma menyebabkan kegiatan metabolisme terhenti, misalnya pada proses pembekuan dan pengeringan.

1. Cahaya dan zat kimia

Cahaya sangat berpengaruh pada proses pertumbuhan bakteri. Cahaya dapat merusak sel bakteri yang tidak berklorofil. Sinar ultraviolet (UV) yang dapat membunuh bakteri memiliki panjang gelombang 210-300 nm. Asam nukleat merupakan komponen sel yang dapat menyerap sinar UV. Sel yang terpapar akan mengalami ionisasi sehingga mengakibatkan kerusakan, terhambatnya pertumbuhan atau menyebabkan kematian.

1. **Bakteri *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri patogen penting yang berkaitan dengan virulensi toksin, invasif, dan ketahanan terhadap antibiotik. Menurut Karimela et al., (2017) menyatakan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan terjadinya berbagai jenis infeksi mulai dari infeksi kulit ringan, keracunan makanan sampai dengan infeksi sistemik. *Staphylococcus aureus* masuk ke dalam kelompok bakteri gram positif dengan bentuk sel berupa kokus dengan diameter antara 0,5 -1,0 µm. Bakteri *Staphylococcus aureus* biasanya mengelompok yang menyerupai buah anggur berantai pendek atau berpasangan. *Staphylococcus aureus* tidak membentuk spora serta tidak dapat bergerak.

Selain itu menurut dari Lestari et al., (2020) menyatakan bahwa *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu genus dari *Staphylococcus* yang bersifat patogen utama bagi manusia. Bakteri ini merupakan bentuk koagulase positif, hal ini membedakannya dari spesies *Staphylococcus* lainnya karena koagulase negatif (*S.epidermidis*, *S.warneri*, *S.hominis* dan spesies lainnya) merupakan flora normal manusia dan jarang menyebabkan infeksi. Bakteri ini tumbuh secara anaerobik fakultatif dengan membentuk kumpulan sel-sel seperti anggur bakteri ini umumnya tumbuh pada suhu optimum 37ºC, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25ºC).

****

**Gambar 2.3** Bakteri *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan klasifikasi bakteri menurut Hasibuan (2016) *Staphylococcus aureus*, sebagai berikut:

Kingdom :Monera

Divisi :Firmicutes

Kelas :Bacilli

Ordo :Basillates

Famili :Staphylococcaceae

Genus :*Staphylococcus*

Spesies :*Staphylococcus aureus*

Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat menyerang sebagian tubuh. Bakteri ini dapat ditemukan pada hidung, mata, jari, usus, dan hati. Bakteri ini dapat tinggal sementara di daerah kulit yang basah. Infeksi *Staphylococcus aureus* biasanya terjadi pada luka yang terbuka.

1. **Antibakteri**

Antibakteri adalah obat pembasmi bakteri khususnya bakteri yang merugikan manusia. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada bakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri dan ada yang bersifat membunuh bakteri.

1. **Metode Uji Antibakteri**

Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membrane sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Brooks, dkk., 2007).

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran.

1. Metode Difusi

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode ini, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasi 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, dkk., 2007).

Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara, yaitu:

1. Metode cakram kertas (Kirby Bauer)

Pada metode cakram kertas (Kirby Bauer) digunakan suatu kertas cakram saring (*Paper disc*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring yang mengandung zat antimikroba tersebut diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji. Kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji yaitu pada suhu 37˚C selama 18-24 jam. Pada metode difusi, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji (Kusmayati dan Agustini, 2007). Ada dua macam zona hambat yang terbentuk dari cara Kirby Bauer (Bauer, dkk., 1966):

1. Zona radikal yaitu suatu daerah disekitar disk dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter dari zona radikal.
2. Zona irradikal yaitu suatu daerah disekitar disk dimana pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibakteri tetapi tidak dimatikan.

*Disk diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter *clear zone* (zona bening yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri yang terbentuk disekeliling zat antimikroba pada masa inkubasi) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak.

Efektivitas aktivitas antibakteri didasarkan pada klasifikasi respon penghambatan pertumbuhan bakteri menurut (Davis dan Stout, 1971 dalam Masykuroh, A dan Heny, P 2022) pada tabel berikut.

**Tabel 2.1** Kategori diameter zona hambat antibakteri menurut (Davis dan Stout, 1971 dalam Masykuroh,A dan Heny,P 2022)

|  |  |
| --- | --- |
| **Diameter Zona Hambat** | **Kategori** |
| <5 mm | Lemah |
| 5-10 mm | Sedang |
| 10-20 mm | Kuat |
| >20 mm | Sangat kuat |

Metode cakram kertas ini memiliki kelebihan dan kekurangan. Kelebihannya adalah mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Sedangkan kelemahannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan preinkubasi serta ketebalan medium.

1. Metode 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. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan disekeliling lubang.

1. Metode parit (*Ditch*)

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut diisi dengan zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambat yang terbentuk disekitar parit.

1. Metode pengenceran (Dilusi cair atau dilusi padat)

Metode ini biasanya digunakan untuk menemukan konsentrasi hambat minimal dan konsentrasi bunuh minimal dari suatu bahan uji atau obat terhadap kuman percobaan. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi obat ditambah suspensi kuman dalam media. Sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar, lalu ditanami bakteri (Bonang, 1992).

1. Metode kekeruhan (Turbidimetri)

Metode ini menggunakan beberapa tabung yang telah disiapkan, diisi larutan pembanding dan sediaan uji dengan variasi kadar tertentu, kemudian ditambahkan medium yang telah diinokulasikan dengan bakteri. Tabung diinkubasikan dalam inkubator pada temperatur 37˚C. Setelah perode inkubasi selesai, kekeruhan pertumbuhan bakteri diukur menggunakan instrumen yang sesuai misalnya spektrofotometri atau nephelometer (Jawettz, 2001).

1. **Antibakteri Pembanding (Kloramfenikol)**

Mekanisme kerja kloramfenikol yaitu menghambat sintesis protein. Bersifat bakteriostatik terhadap *Enterobacter* dan *S. aureus* berdasarkan perintangan sintesis polipeptida kuman. Bersifat bakterisid terhadap *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* dan *H. Influenza*. Obat ini untuk mengobati infeksi yang berbahaya yang tidak efektif bila diobati dengan antibiotik yang kurang efektif. Contoh obatnya adalah kloramfenikol, turunannya yaitu tiamfenikol (Yuana, 2016).

1. **Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Perak**

Salah satu nanopartikel yang banyak dipelajari adalah nanopartikel perak. Perak merupakan suatu logam yang memiliki aktivitas antibakteri. Dalam bentuk nanopartikel perak, aktivitas sebagai antibakterinya lebih baik dibandingkan dalam bentuk makromolekularnya (Az-Zhahra et al., 2019). Salah satu jenis nanopartikel dengan manfaat yang luas yaitu nanopartikel perak. Nanopartikel perak memiliki sifat antimikroba yang dapat digunakan dalam berbagai macam produk kesehatan (Ariyanta, 2014).

Aktivitas antibakteri pada nanopartikel perak umumnya dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya konsentrasi, bentuk dan ukuran nanopartikel perak serta jumlah dan jenis bakteri yang berinteraksi dengan nanopartikel perak. Semakin kecil ukuran partikel nanopartikel perak akan berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri, dimana semakin kecil ukuran partikel maka semakin besar efek antibakterinya (Maharani, 2018).

1. **Mekanisme Kerja Nanopartikel Perak Sebagai Antibakteri**

Nanopartikel perak umumnya di aplikasikan sebagai agen antibakteri (Ivan Fadillah & Anggi Arumsari, 2022). Menurut Rahmidar et al., (2020) nanopartikel perak memiliki kemampuan antibakteri yang kuat. Berikut adalah mekanisme kerja nanopartikel perak terhadap antibakteri:

1. Nanopartikel perak dapat merusak membran sel bakteri, sehingga menyebabkan kematian bakteri.
2. Nanopartikel perak dapat mengganggu metabolisme bakteri, sehingga menyebabkan kematian bakteri.
3. Nanopartikel perak dapat membentuk radikal bebas yang dapat merusak DNA bakteri, sehingga menyebabkan kematian bakteri.
4. Nanopartikel perak dapat membentuk kompleks dengan protein pada permukaan bakteri, sehingga menyebabkan kematian bakteri.

Nanopartikel perak dapat diaplikasikan sebagai lapisan antibakteri penyebab luka infeksi. 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.