



**SINTESIS AgNPs DENGAN BIOREDUKTOR EKSTRAK AIR
HERBA RUMPUT BETUNG (*Equisetum debile* Roxb.) DAN
POTENSINYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

SKRIPSI

Oleh

Alviani Dwi Karmilasari

202210101029

KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET,

DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS JEMBER

FAKULTAS FARMASI

JEMBER

2024



**SINTESIS AgNPs DENGAN BIOREDUKTOR EKSTRAK AIR
HERBA RUMPUT BETUNG (*Equisetum debile* Roxb.) DAN
POTENSINYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan memperoleh gelar

Sarjana Farmasi

SKRIPSI

Oleh

Alviani Dwi Karmilasari

202210101029

KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET,

DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS JEMBER

FAKULTAS FARMASI

JEMBER

2024

PERSEMBAHAN

Skripsi ini dipersembahkan untuk:

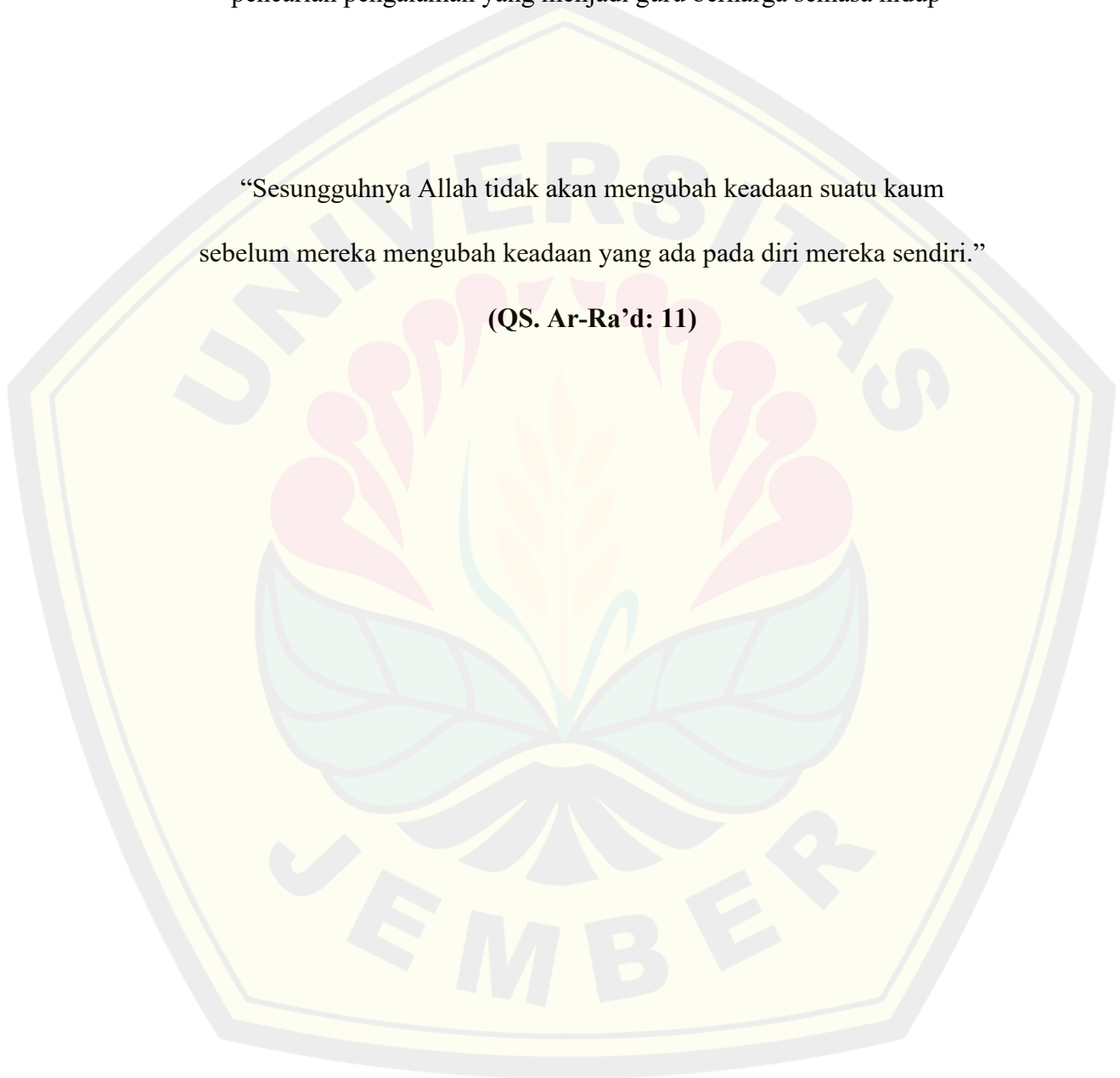
1. Allah SWT yang telah memberikan petunjuk, kekuatan dan kesabaran kepada penulis.
2. Bapak Katiran dan ibu Sri Handayani, serta keluarga penulis atas segala doa, dukungan serta pengorbanan untuk mewujudkan harapan dan cita-cita penulis.
3. Ibu apt. Lidya Ameliana S.Si., M.Farm yang telah sabar dan menjadi Dosen Pembimbing Akademik dari awal semester hingga saat ini.
4. Ibu Dr. apt. Yuni Retnaningtyas, S.Si., M.Si dan ibu apt. Endah Puspitasari., S.Farm., M.Sc. selaku dosen pembimbing yang telah membimbing penulis hingga penyusunan skripsi selesai dengan baik.
5. Bapak dan ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah membimbing dan memberikan ilmu yang bermanfaat selama menempuh pendidikan strata satu.
6. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

“Relasi, adaptasi, dan intropeksi diri
adalah bagian dan/atau proses penting dari
pencarian pengalaman yang menjadi guru berharga semasa hidup”

“Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah keadaan suatu kaum
sebelum mereka mengubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri.”

(QS. Ar-Ra’d: 11)



PERNYATAAN ORISINILITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Alviani Dwi Karmilasari

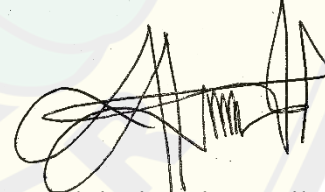
NIM : 202210101029

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “*Sintesis AgNPs dengan Bioreduktor Ekstrak Air Herba Rumput Betung (Equisetum debile Roxb.) dan Potensinya Sebagai Antioksidan*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah disebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 22 Januari 2024

Yang menyatakan,



Alviani Dwi Karmilasari

NIM. 202210101029

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi berjudul “*Sintesis AgNPs dengan Bioreduktor Ekstrak Air Herba Rumput Betung (Equisetum debile Roxb.) dan Potensinya Sebagai Antioksidan*” karya Alviani Dwi Karmilasari telah diuji dan disahkan pada:

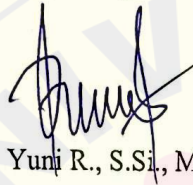
Hari, tanggal : Karnis, 25 Januari 2024

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota



Dr. apt. Yuni R., S.Si., M.Si.

NIP.197806092005012004



apt. Endah P., S.Farm., M.Sc.

NIP 198107232006042002

Tim Penguji

Dosen Penguji Utama

Dosen Penguji Anggota



apt. Nia K., S.Farm., M.Farm.

NIP.198204062006042001



apt. Dewi D., S.Farm., M.Farm

NIP.198712082014042002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember



Dr. apt. Nuri, S.Si., M.Si

NIP.196904122001121007

ABSTRACT

Synthesis of AgNPs with Bioreductant Water Extract of Betung Grass Herb (Equisetum debile Roxb.) and Its Potential as an Antioxidant. This research is based on the great potential of betung grass but is not balanced by its use in the field of nanotechnology, especially nanoparticles (1-100 nm) which have very superior physicochemical properties and activity. True experimental laboratory research to determine the potential of betung grass (*Equisetum debile*) water extract as a bioreductor and capping agent in the green synthesis of AgNPs and its antioxidant activity. Determining the total phenolic content (TPC) in the water extract of betung grass (RB) herb using Folin-Ciocalteu. The green synthesis method produces optimum AgNPs with a ratio of 10% RB extract, AgNO₃, and dispersion media of 0,5:20:12 (v/v) for 60 minutes at 50°C. The maximum wavelength of AgNPs produced is 423 nm with an absorption of 1,3965. FT-IR spectrophotometric characterization found that phenolic compounds in RB extract were thought to act as reducing agents in the synthesis of AgNPs. SEM results show the spherical shape of AgNPs. Meanwhile, the PSA test results show an average AgNPs size is 67 nm and a polydispersity index is 0,424 (mid-range polydispersity). Determining the IC₅₀ value of antioxidants using the DPPH method gave results based on One way ANOVA data analysis ($p < 0,01$), the IC₅₀ value of AgNPs synthesized with RB extract was $76,604 \pm 0,846 \mu\text{g/mL}$ which was categorized as a stronger antioxidant than RB extract.

Keywords: Water Extract of Betung Grass (*Equisetum debile* Roxb.), Silver Nanoparticles (AgNPs), Antioxidant Activity.

RINGKASAN

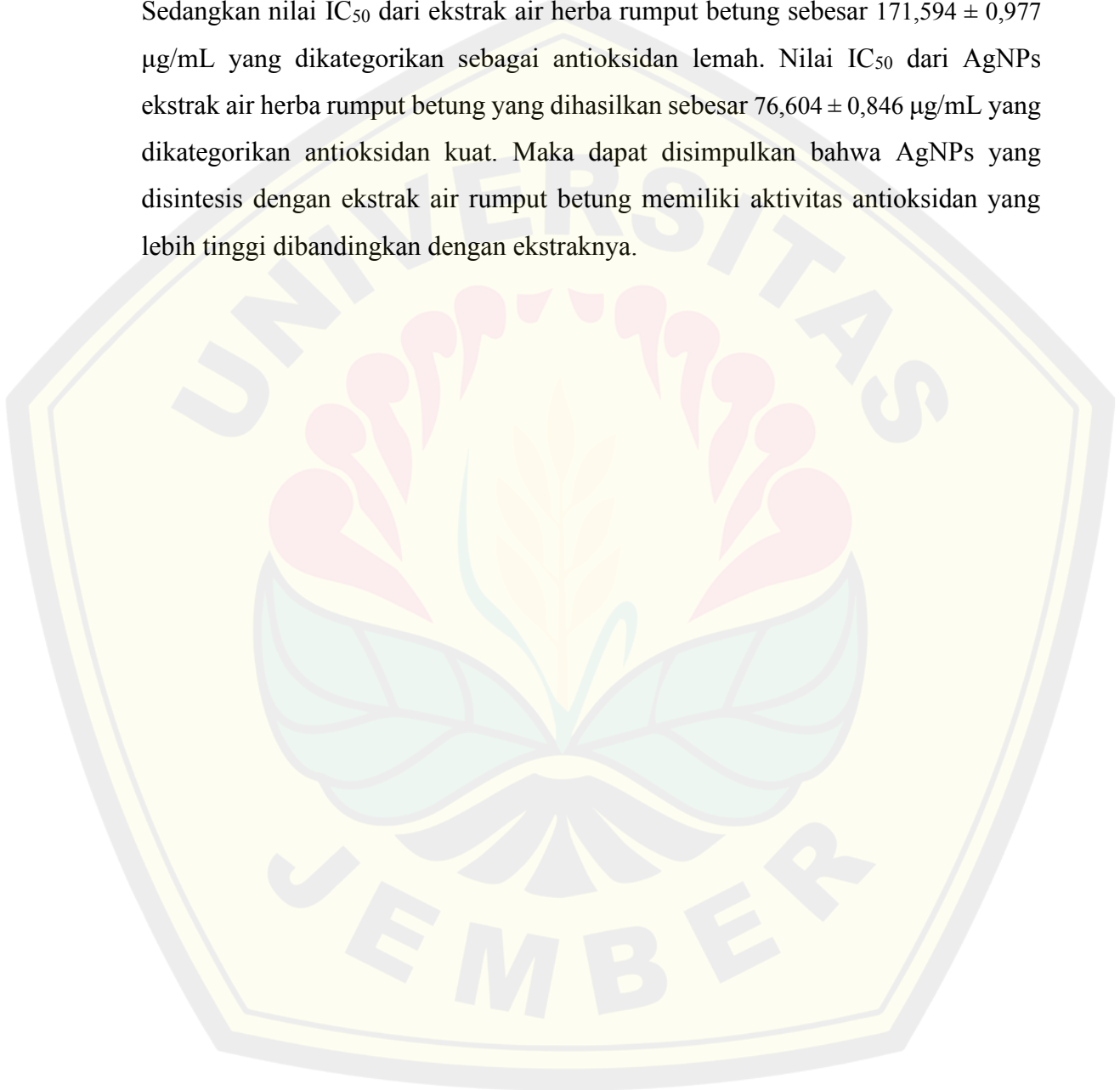
Sintesis AgNPs dengan Bioreduktor Ekstrak Air Herba Rumput Betung (*Equisetum debile* Roxb.) dan Potensinya Sebagai Antioksidan: Alviani Dwi Karmilasari: 202210101029; 2024; 64 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Nanopartikel perak (AgNPs) merupakan pengembangan nanoteknologi dengan ukuran partikel 1-100 nm yang memiliki kelebihan misalnya dapat meningkatkan penghantaran dan/atau penyerapan obat, memiliki stabilitas yang tinggi, dan reaktivitas kimia yang rendah dibanding dengan logam lainnya. Nanopartikel perak juga memiliki sifat antibakteri, antioksidan, antijamur, antivirus, dan antiinflamasi. Semakin kecil ukuran partikel maka AgNPs dinilai memiliki aktivitas yang semakin besar. Metode sintesis AgNPs yang saat ini banyak digunakan adalah *green synthesis* dengan ekstrak tumbuhan. Metabolit sekunder pada tumbuhan misalnya senyawa fenolik, alkaloid, flavonoid, dan lain sebagainya sangat berpotensi dalam *green synthesis* nanopartikel perak sebagai agen bioreduktor dan *capping agent* untuk menghasilkan nanopartikel dengan karakteristik yang baik dan stabil. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai agen bioreduktor AgNPs adalah herba rumput betung yang dapat ditemui dengan mudah dan memiliki beberapa senyawa fenolik dengan kemampuan antioksidan yang baik. Berdasarkan latar belakang tersebut maka tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan kadar fenolik total pada ekstrak air herba rumput betung, mensintesis dan mengkarakterisasi AgNPs dengan bioreduktor dan *capping agent* ekstrak air herba rumput betung serta menguji kemampuannya sebagai antioksidan.

Hasil penetapan kadar fenolik total dari ekstrak air herba rumput betung pada konsentrasi yang optimum untuk sintesis yaitu 10% sebesar $61,503 \pm 0,089$ mg GAE/100 mL. AgNPs yang dihasilkan dengan komposisi dan kondisi sintesis yang optimal memiliki panjang gelombang maksimum 423 nm dengan absorbansi sebesar 1,3965. Berdasarkan karakterisasi FT-IR senyawa fenolik diduga berperan dalam sintesis AgNPs sebagai agen bioreduktor. Hasil PSA dari AgNPs ekstrak air

herba rumput betung berupa *Z-average* sebesar 67,0 nm dengan nilai indeks polidispersitas kategori *mid-range polydispersity* sebesar 0,424.

Pengujian antioksidan pada vitamin C, ekstrak air herba rumput betung, dan AgNPs memberikan hasil berupa IC_{50} . Nilai IC_{50} dari vitamin C sebagai kontrol positif sebesar $1,762 \pm 0,028 \mu\text{g/mL}$ dengan kategori antioksidan sangat kuat. Sedangkan nilai IC_{50} dari ekstrak air herba rumput betung sebesar $171,594 \pm 0,977 \mu\text{g/mL}$ yang dikategorikan sebagai antioksidan lemah. Nilai IC_{50} dari AgNPs ekstrak air herba rumput betung yang dihasilkan sebesar $76,604 \pm 0,846 \mu\text{g/mL}$ yang dikategorikan antioksidan kuat. Maka dapat disimpulkan bahwa AgNPs yang disintesis dengan ekstrak air rumput betung memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraknya.



PRAKATA

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan nikmat, hidayah, dan petunjuk, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “*Sintesis AgNPs dengan Bioreduktor Ekstrak Air Herba Rumput Betung (Equisetum debile Roxb.) dan Potensinya Sebagai Antioksidan*”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat kelulusan dalam menyelesaikan Pendidikan strata satu di Fakultas Farmasi.

Penyusunan skripsi ini tidak dapat terlepas dari dukungan dan bimbingan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menuliskan ucapan terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua penulis Bapak Katiran dan Ibu Sri Handayani serta kakak perempuan penulis Yeni Rahayu Kartika Sari yang telah memberikan kasih sayang dan segala kebaikan serta doa sepanjang hidup penulis;
2. Bapak Dr. apt. Nuri, S. Si., M. Si. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Ibu apt Lidya Ameliana S.Si., M.Farm selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah mengarahkan dan membimbing penulis selama menjadi mahasiswa hingga saat ini;
4. Ibu Dr. apt. Yuni Retnaningtyas, S.Si., M.Si dan ibu apt. Endah Puspitasari., S.Farm., M.Sc. selaku dosen pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu dan mengarahkan penulis hingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik dan tepat waktu;
5. Ibu apt. Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm dan ibu apt. Dewi Dianasari, S.Farm., M.Farm selaku dosen penguji yang bersedia meluangkan waktu dan memberi saran, masukan dan kritik yang sangat membangun demi kesempurnaan penyusunan skripsi ini;
6. Teman penulis dalam grup “FENGSSU” (Hidayah Salsabila Danawati, Muhammad Iqbal Arrasyid, Muhammad Aldy Aliffiari, Adelya Resti Aanisah, Whendy Waliya Arafika, dan Sausan Dini Widyasari) yang telah menjadi teman seperjuangan yang supportif dari awal semester hingga saat ini dan bahkan nanti;

7. Rendy Aldia Saputra, Brigifa Frisca Espanola, dan Amalia Rizky Ghassani yang turut membantu serta support penulis secara emosional dalam menyelesaikan tugas akhir;
8. Kak Oppie Fazila dan kak Imam Fauzi yang turut membantu perihal pemahaman dan teknis pekerjaan laboratorium tugas akhir;
9. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium Kimia Analisis yang telah memberikan saran dan masukan;
10. Keluarga besar MELALEUCA'20 dan Kelas B 2020 yang telah berproses bersama;
11. Keluarga Besar BEMF Farmasi terutama Kabinet ABHIPRAYA CAKRAWALA dan ASTRARIKSHA yang telah memberikan rumah ternyaman;
12. Departemen Akademik dan Prestasi Abhipraya Cakrawala (Mba Laily Tazkiyah Hanim, Dharma Yudhistira, Amanda Sharla, dan Velicia Natasya) serta anak-anakku di Departemen Internal Astrariksha (Ahmad Muhyidin, Nur Lailatul Jamila, Nun Simma, dan Amalia Salma) yang selalu support dan menjadi rekan selama berproses dalam segala per-BEM-an selama 2 periode;
13. Semua pihak yang membantu penulis dalam menyusun skripsi ini;

Penulis mengucapkan terimakasih atas segala doa dan kebaikan yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulis mengetahui jika dalam penulisan masih banyak kekurangan yang harus dibenahi. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca dan perkembangan di bidang farmasi.

Jember, 22 Januari 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERSEMBAHAN	ii
MOTTO	iii
PERNYATAAN ORISINILITAS	iv
HALAMAN PERSETUJUAN	v
ABSTRACT	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Nanopartikel Perak (AgNPs)	4
2.2 Sintesis Nanopartikel Perak (AgNPs)	4
2.3 Karakterisasi Nanopartikel Perak (AgNPs)	6
2.3.1 Karakterisasi AgNPs Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis	6
2.3.2 Karakterisasi AgNPs Menggunakan Spektrofotometer FT-IR	6
2.3.3 Karakterisasi AgNPs Menggunakan <i>Scanning Electron Microscopy</i>	6
2.3.4 Karakterisasi AgNPs Menggunakan <i>Particle Size Analyzer</i>	7
2.4 Rumput Betung (<i>Equisetum debile</i>)	7
2.5 Aktivitas Antioksidan Nanopartikel Perak (AgNPs)	8
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	10
3.1 Jenis Penelitian	10
3.2 Definisi Operasional	10
3.3 Variabel Penelitian	10
3.3.1 Variabel bebas	10
3.3.2 Variabel terikat	10
3.3.3 Variabel terkontrol	11
3.4 Waktu dan Tempat Penelitian	11

3.5	Bahan dan Alat Penelitian.....	11
3.6	Rancangan Penelitian.....	12
3.7	Prosedur Penelitian.....	13
3.7.1	Determinasi Simplisia.....	13
3.7.2	Prosedur Ekstraksi Air Herba Rumput Betung.....	13
3.7.3	Prosedur Penetapan Fenolik Total Ekstrak Air Herba Rumput Betung.....	13
3.7.4	Optimasi Komposisi dan Kondisi Sintesis AgNPs.....	14
3.7.5	Karakterisasi AgNPs Ekstrak Air Herba Rumput Betung.....	15
3.7.6	Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan AgNPs Ekstrak Air Herba Rumput Betung.....	16
3.7.7	Analisis Data.....	19
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
4.1	Ekstraksi Air Herba Rumput Betung.....	21
4.2	Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Air Herba Rumput Betung.....	21
4.3	Optimasi Komposisi dan Kondisi Sintesis AgNPs dengan Bioreduktor Ekstrak Air Herba Rumput Betung.....	23
4.3.1	Optimasi komposisi AgNPs.....	23
4.3.2	Optimasi kondisi sintesis AgNPs.....	25
4.4	Karakterisasi AgNPs Ekstrak Air Herba Rumput Betung.....	27
4.4.1	Karakterisasi AgNPs dengan spektrofotometri UV-Vis.....	27
4.4.2	Karakterisasi AgNPs dengan spektrofotometri FT-IR.....	28
4.4.3	Karakterisasi AgNPs dengan SEM.....	29
4.4.4	Karakterisasi AgNPs dengan PSA.....	30
4.5	Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Herba Rumput Betung dan AgNPs.....	31
4.5.1	Optimasi waktu inkubasi.....	31
4.5.2	Aktivitas antioksidan.....	32
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	34
5.1	Kesimpulan.....	34
5.2	Saran.....	34
	DAFTAR PUSTAKA.....	35
	LAMPIRAN.....	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Mekanisme reaksi sintesis AgNPs	5
Gambar 2. 2 Morfologi rumput betung	7
Gambar 3. 1 Skema rancangan penelitian	12
Gambar 4. 1 Spektra panjang gelombang maksimum dan kurva baku asam galat21	
Gambar 4. 2 Spektra hasil optimasi konsentrasi ekstrak air herba rumput betung	23
Gambar 4. 3 Spektra hasil optimasi perbandingan volume AgNO ₃ dan media pendispersi	24
Gambar 4. 4 Spektra hasil optimasi suhu sintesis	25
Gambar 4. 5 Spektra hasil optimasi waktu sintesis	26
Gambar 4. 6 Spektra karakterisasi spektrofotometri UV-Vis	27
Gambar 4. 7 Spektra karakterisasi spektrofotometri FT-IR	28
Gambar 4. 8 Hasil karakterisasi SEM	29
Gambar 4. 9 Hasil karakterisasi PSA	30
Gambar 4. 10 Hasil optimasi waktu inkubasi	31

DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Hasil penetapan kadar fenolik total ekstrak air herba rumput betung..	22
Tabel 4. 2 Karakterisasi spektrofotometri UV-Vis	28
Tabel 4. 3 Hasil karakterisasi FT-IR.....	28
Tabel 4. 4 Nilai IC ₅₀ dan kategori aktivitas antioksidan	32



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 2. 1 Mekanisme reaksi DPPH dengan AgNPs sebagai antioksidan	40
Lampiran 4. 1 Hasil Determinasi Tanaman	40
Lampiran 4. 2 Proses Ekstraksi Air Herba Rumpu Betung	41
Lampiran 4. 3 Perhitungan Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Air Herba Rumpu Betung	41
Lampiran 4. 4 Optimasi Komposisi dan Kondisi Sintesis AgNPs dengan Bioreduktor Ekstrak Air Herba Rumpu Betung	43
Lampiran 4. 5 Uji Stabilitas AgNPs	45
Lampiran 4. 6 Karakterisasi AgNPs dengan spektrofotometri UV-Vis	45
Lampiran 4. 7 Karakterisasi AgNPs dengan spektrofotometri FT-IR	46
Lampiran 4. 8 Karakterisasi AgNPs dengan SEM	47
Lampiran 4. 9 Karakterisasi AgNPs dengan PSA	48
Lampiran 4. 10 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Pengujian Antioksidan	49
Lampiran 4. 11 Penentuan Persentase Daya Hambat dan IC ₅₀ Vitamin C	51
Lampiran 4. 12 Penentuan Persentase Daya Hambat dan IC ₅₀ Ekstrak Air Herba Rumpu Betung	55
Lampiran 4. 13 Penentuan Persentase Daya Hambat dan IC ₅₀ AgNPs Ekstrak Air Herba Rumpu Betung	58
Lampiran 4. 14 Analisis Data Kadar Fenolik Total Ekstrak Air Herba Rumpu Betung	62
Lampiran 4. 15 Analisis Data Penentuan IC ₅₀ Antioksidan	63

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penelitian dan penerapan nanoteknologi dalam berbagai bidang saat ini berkembang dengan pesat. Sistem nanopartikel diperkenalkan pertama kali oleh Richard P. Feynman pada 1959 dan banyak dikembangkan karena sifat fisikokimianya yang unik seperti ukurannya yang sangat kecil (1-100 nm), luas permukaan yang besar, dan reaktivitas yang tinggi (Bayda dkk., 2020). Dari beberapa jenis nanopartikel, nanopartikel perak (AgNPs) merupakan nanopartikel logam yang paling banyak digunakan karena mampu meningkatkan penghantaran dan/atau penyerapan obat, memiliki stabilitas yang tinggi, dan reaktivitas kimia yang rendah dibanding dengan logam lainnya (Mustapha dkk., 2022), serta memiliki sifat antibakteri, antioksidan, antijamur, antivirus, dan antiinflamasi (Batir-Marín dkk., 2021). Stabilitas dan aktivitas dari AgNPs dipengaruhi oleh ukuran, morfologi dan komposisi partikel, kecenderungan aglomerasi, reaktivitas partikel dalam larutan, efisiensi pelepasan ion, serta zat pereduksi yang digunakan untuk memperoleh partikel. Semakin kecil ukuran partikel maka AgNPs dinilai memiliki aktivitas yang semakin besar (Zhang dkk., 2016).

Terdapat beberapa metode untuk sintesis nanopartikel yaitu metode secara kimia, fisika, dan biologi. Dari ketiga metode sintesis, metode biologi (*green synthesis*) dianggap sebagai metode alternatif yang ramah lingkungan, lebih ekonomis, lebih mudah karena tidak adanya penggunaan suhu dan tekanan yang tinggi, bebas produk sampingan yang berbahaya, serta lebih efektif bila sintesis ditingkatkan pada skala yang besar dibandingkan metode kimia dan fisika. (Li dkk., 2014). Metode *green synthesis* menggunakan ekstrak tumbuhan dianggap lebih disukai dibandingkan penggunaan mikroorganisme lain seperti *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Klebsiella pneumoniae* (Gahlawat dan Choudhury, 2019) karena proses sintesis membutuhkan waktu lebih cepat, murah, dan prosedur lebih sederhana tanpa adanya tahapan pengembangan kultur sel (Rafique dkk., 2017). Metabolit sekunder pada tumbuhan (alkaloid, flavonoid, fenolik, terpenoid, dll) merupakan senyawa fitokimia yang

berpotensi dalam *green synthesis* nanopartikel perak sebagai agen bioreduktor dan *capping agent* pada permukaan nanopartikel agar lebih stabil (Siddiqi dkk., 2018). Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai agen bioreduktor dan *capping agent* dalam sintesis AgNPs adalah ekstrak herba rumput betung (*Equisetum debile*). Ekstrak air herba rumput betung memiliki flavonoid sebesar $0,15 \pm 0,02$ g/100 g (Rehman dkk., 2018) dan fraksi airnya memiliki total kandungan fenolik sebesar 121,14 mg GAE/g (May dkk., 2018).

Di Indonesia, rumput betung dapat ditemui dengan mudah sebagai gulma di wilayah dataran rendah serta ladang rumput di pulau Jawa dan Sumatera. Namun keberadaannya yang sangat melimpah belum dimanfaatkan secara maksimal dalam bidang nanoteknologi terutama aktivitasnya sebagai antioksidan melainkan hanya dimanfaatkan sebagai alat bantu mencuci (Muhaimin dan Mustaqim, 2021).

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa tanaman yang berasal dari genus yang sama, yaitu *Equisetum arvense* (Das dkk., 2020), *Equisetum hyemale* (Gonzalez dkk., 2020), dan *Equisetum sylvaticum* (Tărăboanță dkk., 2023) telah terbukti memiliki kemampuan sebagai agen bioreduktor dan *capping agent* dalam sintesis AgNPs dan dinilai berpotensi memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Berdasarkan uraian di atas, pemanfaatan rumput betung sebagai agen bioreduktor dan *capping agent* dalam sintesis AgNPs dan potensinya sebagai antioksidan belum pernah dilakukan sehingga pada penelitian ini akan dilakukan *green synthesis* AgNPs dengan memanfaatkan ekstrak air herba rumput betung (*Equisetum debile*) sebagai agen bioreduktor dan *capping agent* dan pengujian aktivitasnya sebagai antioksidan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, permasalahan yang dapat dirumuskan dalam penelitian ini antara lain:

1. Bagaimana kadar fenolik total pada ekstrak air herba rumput betung?
2. Bagaimana komposisi optimum (konsentrasi ekstrak, volume prekursor AgNO₃, dan volume air) serta kondisi sintesis optimum (suhu dan waktu sintesis) pada *green synthesis* AgNPs dengan agen bioreduktor dan *capping agent* ekstrak air herba rumput betung?
3. Bagaimana karakteristik AgNPs dengan agen bioreduktor dan *capping agent* ekstrak air herba rumput betung?
4. Bagaimana aktivitas antioksidan AgNPs dengan agen bioreduktor dan *capping agent* ekstrak air herba rumput betung?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini, yaitu:

1. Menentukan kadar fenolik total pada ekstrak air herba rumput betung.
2. Menentukan komposisi optimum (konsentrasi ekstrak, volume prekursor AgNO₃, dan volume air) serta kondisi sintesis optimum (suhu dan waktu sintesis) pada *green synthesis* AgNPs dengan agen bioreduktor dan *capping agent* ekstrak air herba rumput betung.
3. Melakukan karakterisasi AgNPs dengan agen bioreduktor dan *capping agent* ekstrak air herba rumput betung.
4. Melakukan uji aktivitas antioksidan AgNPs dengan agen bioreduktor dan *capping agent* ekstrak air herba rumput betung.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai referensi yang bermanfaat bagi instansi maupun mahasiswa yang ingin melakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengembangan ekstrak tumbuhan pada *green synthesis* AgNPs serta aktivitasnya sebagai antioksidan.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nanopartikel Perak (AgNPs)

Nanopartikel adalah partikel dengan ukuran berkisar antara 1-100 nm yang berkembang pesat terutama dalam pengembangan sistem penghantaran obat karena memiliki sifat fisikokimia dan biologis yang unik yaitu peningkatan luas area dan kemampuan untuk melintasi penghalang sel dan jaringan target obat yang dikaitkan dengan peningkatan keamanan, bioavailabilitas obat, serta efek terapeutik jika dibandingkan dengan obat konvensional (Bamal dkk., 2021).

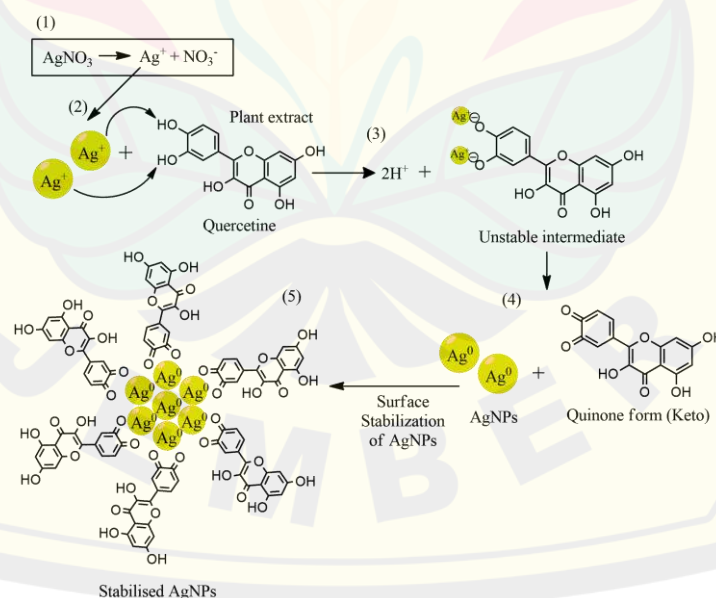
Nanopartikel diklasifikasi menjadi dua golongan yaitu nanopartikel organik dan anorganik. Nanopartikel anorganik disebut sebagai nanopartikel tidak beracun, sangat stabil, dan memiliki sifat yang lebih biokompatibel serta hidrofilik dibandingkan nanopartikel organik (Ijaz dkk., 2020). Aluminium (Al), emas (Au), besi (Fe), timbal (Pb), perak (Ag) merupakan jenis nanopartikel anorganik logam yang telah banyak digunakan. Dari beberapa jenis logam yang disintesis menjadi nanopartikel, nanopartikel perak (AgNPs) memiliki sifat fisika, kimia dan biologis yang lebih unggul berkaitan dengan keamanan, biokompatibilitas, aktivitas antimikroba, antioksidan, antijamur, dan antikanker yang lebih baik serta biaya sintesis lebih ekonomis (Abbasi dkk., 2016).

2.2 Sintesis Nanopartikel Perak (AgNPs)

Sintesis nanopartikel dapat dilakukan dengan tiga pilihan metode sintesis, yaitu metode kimia, fisika, dan biologi. Dari ketiga metode, metode biologis (*green synthesis*) yang menjadi metode yang paling banyak digunakan untuk sintesis nanopartikel terutama berbahan logam. Hal ini dikarenakan, metode *green synthesis* melibatkan prosedur yang relatif ekonomis, mudah ditingkatkan ke sintesis skala besar, sederhana karena tidak memerlukan suhu dan tekanan yang terlalu tinggi seperti pada metode fisika serta bersifat ramah lingkungan karena tidak menggunakan bahan reduktor dan/atau reagen yang menghasilkan residu berbahaya terhadap lingkungan seperti pada metode kimia (Mousavi dkk., 2018).

Metode *green synthesis* merupakan salah satu metode yang menggunakan pendekatan sintesis secara *bottom-up* yaitu dengan menyatukan dan/atau menggabungkan *bulk material* yang berukuran kecil menjadi sebuah nanopartikel. Pendekatan *bottom-up* lebih disukai untuk *green synthesis* nanopartikel karena menghasilkan nanopartikel yang lebih baik dan stabil dibandingkan pendekatan *top-down* yang menghasilkan nanopartikel dengan permukaan dan tepi yang cenderung kasar dan banyak menghasilkan rongga udara (Bouafia dkk., 2021).

Elemen penting untuk *green synthesis* AgNPs adalah perak nitrat (AgNO_3) dan agen bioreduktor. Selain sebagai zat pereduksi, agen bioreduktor berperan ganda sebagai stabilisator atau *capping agent* pada permukaan AgNPs untuk mencegah aglomerasi. Terdapat beberapa agen bioreduktor yang digunakan pada *green synthesis* antara lain bakteri, fungi, *yeast*, biopolymer, dan ekstrak tanaman. Ekstrak tanaman lebih banyak digunakan dibandingkan dengan mikroorganisme, karena cenderung dapat dikembangkan secara efektif, sederhana tanpa adanya tahapan pengembangan kultur sel, dan memerlukan waktu yang singkat (Chand dkk., 2020). Reaksi yang terjadi pada Ag^+ menjadi Ag^0 dengan bioreduktor ekstrak tanaman seperti pada Gambar 2.1.



Gambar 2. 1 Mekanisme reaksi sintesis AgNPs dengan agen bioreduktor ekstrak tanaman (Patil dkk., 2017)

2.3 Karakterisasi Nanopartikel Perak (AgNPs)

Identifikasi terbentuknya AgNPs dapat dilakukan secara visual melalui perubahan warna larutan yang awalnya transparan berubah menjadi kuning pucat hingga coklat tua yang menunjukkan adanya reduksi AgNO_3 secara bertahap dari Ag^+ menjadi Ag^0 (nanopartikel) oleh agen bioreduktor ekstrak tanaman. Intensitas warna larutan bervariasi tergantung konsentrasi AgNO_3 , semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi pula intensitas warnanya (Bakshi dkk., 2015)

2.3.1 Karakterisasi AgNPs Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Karakterisasi awal terbentuknya AgNPs dapat diamati dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang didasarkan atas radiasi dengan pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet (UV). Spektrofotometri UV-Vis disebut sebagai salah satu teknik yang signifikan untuk memantau pembentukan dan stabilitas AgNPs karena berkaitan dengan eksitasi SPR (*Surface Plasmon Resonance*) yang merupakan panjang gelombang khas dari suatu partikel berukuran nanometer yaitu berkisar antara 400-500 nm dengan menggunakan spektrofotometer Shimadzu UV 1280. Semakin besar nilai panjang gelombang maksimum diduga ukuran partikel yang dihasilkan juga semakin besar (Akar dkk., 2023).

2.3.2 Karakterisasi AgNPs Menggunakan Spektrofotometer FT-IR

Fourier-transform Infrared Spectroscopy merupakan salah satu jenis spektroskopi yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi yang terlibat sebagai agen pereduksi dan *capping agent* pada *green synthesis* AgNPs. Spektrum FT-IR untuk karakterisasi AgNPs diukur pada bilangan gelombang $4.000\text{--}600\text{ cm}^{-1}$ serta dilakukan dengan menggunakan metode KBr (pelat kalium bromida) (Muenraya dkk., 2022).

2.3.3 Karakterisasi AgNPs Menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

Salah satu karakterisasi nanopartikel yang dapat dilakukan untuk melihat morfologi struktur permukaan suatu partikel hingga ukuran 1 nm adalah menggunakan salah satu jenis mikroskop elektron resolusi tinggi yaitu SEM (*Scanning Electron Microscopy*). Informasi yang didapatkan dari hasil analisis menggunakan SEM berupa morfologi (bentuk, ukuran serta susunan partikel),

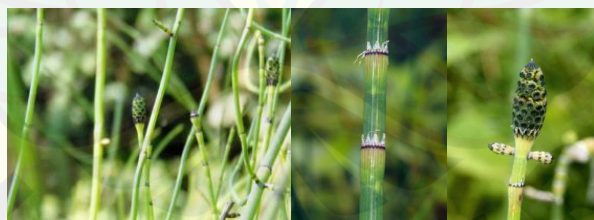
tekstur, komposisi dan terkait kristalografi dari permukaan nanopartikel. Bentuk dari suatu partikel dapat memengaruhi aktivitas nanopartikelnya (Septiano dkk., 2021).

2.3.4 Karakterisasi AgNPs Menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA).

Karakterisasi dengan PSA (*Particle Size Analyzer*) dilakukan untuk melihat distribusi ukuran dari nanopartikel yang terbentuk dengan metode analisis yang mudah dan memberikan hasil analisis yang lebih akurat serta mendukung data analisis SEM (Maarebia dkk., 2019). Parameter hasil analisis nanopartikel dengan menggunakan teknik PSA berupa nilai *Z-Average* yang berkisar antara 1-100 nm dan PDI (*Poly-dispersity Index*) dengan empat tipe klasifikasi dispersitas (Pan dkk., 2017). Suatu nanopartikel dikatakan memenuhi uji standar ukuran nanopartikel bila ukuran partikel berada di rentang 1-100 nm serta memiliki nilai PDI yang rendah yang menunjukkan bahwa distribusi ukuran dari nanopartikel yang terbentuk tersebar secara seragam dan merata (homogen) (Gensdarmes, 2015).

2.4 Rumput Betung (*Equisetum debile*)

Equisetum debile Roxb ex. Vaucher dikenal dengan nama lokal rumput betung atau greges otot merupakan salah satu *genus* *Equisetum* dari *family* *Equisetaceae* (Naturalis Biodiversity Center, 2023) yang banyak ditemukan di Indonesia namun pemanfaatannya dalam bidang nanoteknologi masih tergolong rendah.



Gambar 2. 2 Morfologi rumput betung (Muhaimin dan Mustaqim, 2021)

Senyawa kimia yang terkandung dalam rumput betung antara lain 7-*methoxycoumarin*, *megastigmane diglucoside*, kuersetin dan *kaempferol 3-O-sophoroside*), *phenyl glycoside*, equisetumoside D, *lignan glycosides*, sterol, asam askorbat, asam silikat, karbohidrat, tannin, antrakuinon glikosida, alkaloid, 5-*hidroksimetil-2 furfuraldehida*, equisetumosida, debilignanoside, debilitriol, dan

equisetumin (Muhaimin dan Mustaqim, 2021). Golongan senyawa flavonoid seperti kuersetin dan *kaempferol 3-O-sophoroside* ditemukan dalam ekstrak air herba rumput betung yang berpotensi sebagai agen bioreduktor dan *capping agent* pada sintesis nanopartikel dengan metode *green synthesis* (Chaiyana dkk., 2017). Dalam beberapa penelitian menunjukkan adanya aktivitas dari ekstrak air herba rumput betung diantaranya sebagai antioksidan, sitotoksik, antibakteri, dan antijamur (Muenraya dkk., 2022).

2.5 Aktivitas Antioksidan Nanopartikel Perak (AgNPs)

Nanopartikel perak banyak dipelajari sebagai agen antibakteri yang melibatkan induksi stres oksidatif, penghambatan replikasi DNA, atau interaksi dengan enzim dan protein. Di sisi lain, nanopartikel perak memiliki potensi dalam pengobatan kanker atau Alzheimer karena sifat antioksidannya (Wei dkk., 2015). Antioksidan adalah zat alami atau sintetis yang dapat mencegah atau menunda kerusakan sel dengan mekanisme reduksi radikal bebas atau oksidator (ROS, RNS, dan radikal bebas lainnya). Secara umum, pertahanan antioksidan dapat diperoleh dari senyawa aktif yang terkandung dalam makanan/tumbuhan misalnya vitamin C, E, karotenoid, flavonoid, polifenol, asam folat, unsur Se, Fe, Zn, Mg (Azeez dkk., 2017).

Penentuan kapasitas atau aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan lima metode yaitu metode spektrofotometri, elektrokimia, kromatografi, biosensor, dan nanoteknologi. Pengujian dengan metode spektrofotometri menjadi metode yang paling banyak digunakan karena didasarkan pada reaksi radikal atau kompleks berwarna dengan molekul antioksidan yang mampu menyumbangkan atom hidrogen dan/atau elektron serta memiliki kecepatan pengujian dan sensitivitas yang tinggi, diantaranya pengujian dengan menggunakan DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*), ABTS (*2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid*), dan FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) (Priya dkk., 2016). Dari ketiga metode tersebut masing-masing memiliki kelebihan dan kekurangan.

Terkait mekanisme kerja suatu metode untuk mengukur aktivitas antioksidan, metode FRAP tergolong sebagai metode dengan pemanfaatan transfer elektron saja,

sedangkan metode DPPH dan ABTS menggabungkan dua prinsip metode yaitu transfer atom hidrogen (HAT) dan transfer elektron (ET). Metode DPPH memiliki keunggulan diantaranya yaitu metode lebih sederhana dan cepat, biaya lebih terjangkau, sensitivitas tinggi terhadap sampel konsentrasi kecil, serta mampu mempresentasikan sistem pertahanan tubuh terhadap radikal bebas. Namun prosedur pada metode DPPH harus dilakukan dengan hati-hati karena sangat sensitif terhadap beberapa faktor seperti pH, cahaya, jenis pelarut, dan O₂. Metode ABTS memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dan dapat dilakukan dalam sistem pelarut organik maupun air, dan bekerja pada rentang pH yang luas. Namun metode ABTS memerlukan waktu yang cukup lama 12-16 jam, sangat sensitif terhadap cahaya, biaya mahal dan tidak dapat mempresentasikan sistem pertahanan tubuh terhadap radikal bebas sehingga metode DPPH lebih banyak dipilih untuk uji aktivitas antioksidan (Theafelicia dan Wulan, 2023).

Metode pengujian dengan DPPH adalah radikal bebas stabil berwarna ungu yang bereaksi dengan donor hidrogen (umumnya senyawa fenolik) yang mengakibatkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning pucat. Metode ini disebut sebagai metode yang paling cepat, sederhana, dan murah dibandingkan dengan metode lainnya. Adanya elektron cadangan yang terdelokalisasi pada keseluruhan molekul mencegah dimerisasi dan juga memberi warna pada molekul DPPH dengan serapan maksimum pada sekitar nilai 520 nm dalam spektrum UV/Vis. Hingga kini banyak penelitian yang berfokus membandingkan aktivitas antioksidan dari AgNPs dan senyawa aktif tanaman (Solaiman, 2015).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan adalah jenis penelitian *true experimental laboratories* mengenai pemanfaatan ekstrak air herba rumput betung (*Equisetum debile*) sebagai agen bioreduktor dan *capping agent* dalam *green synthesis* AgNPs dan pengujian aktivitasnya sebagai antioksidan.

3.2 Definisi Operasional

Definisi operasional dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Simplisia rumput betung yang digunakan merupakan simplisia serbuk kering yang berasal dari bagian herba (seluruh bagian tumbuhan di atas tanah), dipanen saat usia 2 bulan pada 26 November 2021 dengan kadar air sebesar 7,08% yang diperoleh dari UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Kabupaten Malang, Jawa Timur pada 16 September 2023.
- b. Ekstrak air herba rumput betung adalah simplisia serbuk kering herba rumput betung yang diekstraksi menggunakan DI water (*Deionized water*) pada suhu 60°C selama 30 menit.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak air herba rumput betung, perbandingan volume AgNO₃ dan DI water sebagai media pendispersi, serta waktu dan suhu sintesis.

3.3.2 Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah karakteristik AgNPs menggunakan spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer FT-IR, SEM, dan PSA; kadar fenolik total ekstrak air herba rumput betung; dan nilai IC₅₀ dari uji aktivitas antioksidan ekstrak air herba rumput betung dan AgNPs ekstrak air herba rumput betung.

3.3.3 Variabel terkontrol

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah volume ekstrak air herba rumput betung, konsentrasi prekursor AgNO₃, prosedur ekstraksi herba rumput betung, prosedur penetapan kadar fenolik total, prosedur *green synthesis* AgNPs, dan prosedur uji aktivitas antioksidan dengan DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*).

3.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan mulai bulan September 2023 hingga Januari 2024 di Laboratorium Kimia Analisis Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.5 Bahan dan Alat Penelitian

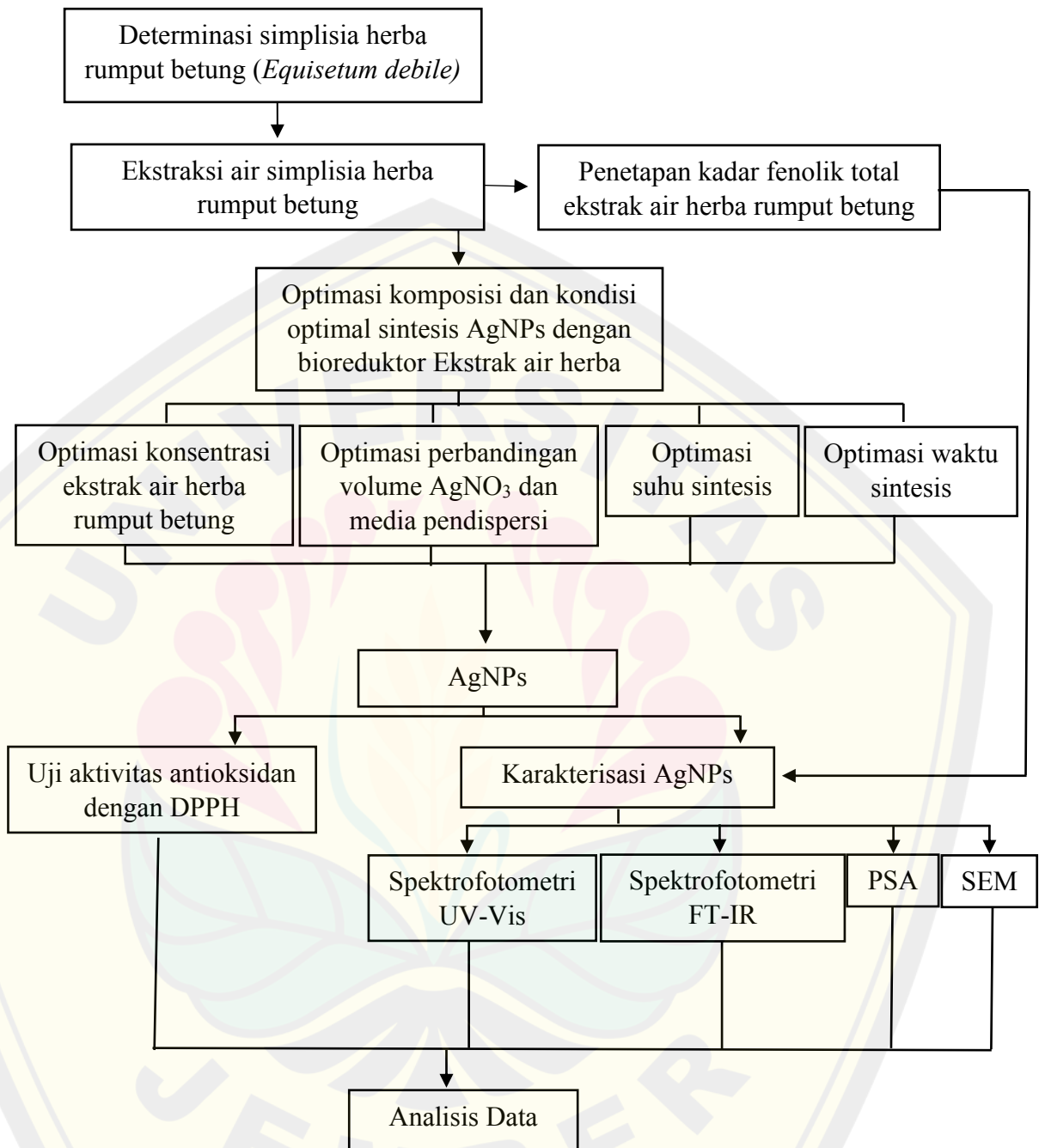
a. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain simplisia serbuk kering herba rumput betung, asam galat (Sigma G7384-100G), reagen *Folin-Ciocalteu* (Merck KGaA), Na₂CO₃ (EMSURE®, ISO), DI water, AgNO₃ (EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur), DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) Sigma-Aldrich, metanol, dan Vitamin C (Pharmaceutical grade).

b. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan analitik (Sartorius dan OHAUS), ayakan *mesh* 40, *hotplate* (Thermo scientific), ultrasonikator (Elmasonic E30H), seperangkat alat gelas di laboratorium (IWAKI), *vortex mixer* (Thermo fisher scientific), mikropipet 100-1000 µL (*Socorex*), *ball filler*, termometer, kuvet (2,5 mL), lemari pendingin, instrumen spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1280), instrumen spektrofotometer FT-IR (Bruker Alpha II-Eco), instrumen PSA (Nano Partica SZ-100V2), instrument SEM (Prisma E SEM), dan *freeze dryer* (Labfreeze instrument FD-12-MR).

3.6 Rancangan Penelitian



Gambar 3. 1 Skema rancangan penelitian

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Determinasi Simplisia

Determinasi simplisia serbuk kering herba rumput betung dilakukan dengan tujuan untuk memastikan kebenaran dan kevalidan identitas dari tumbuhan yang digunakan, dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica di Jl. Lahor No.87, Kecamatan Batu, Kota Batu, Jawa Timur 65313.

3.7.2 Prosedur Ekstraksi Air Herba Rumput Betung

Ekstraksi herba rumput betung dibuat dengan beberapa konsentrasi yaitu 5, 10, dan 15%. Serbuk simplisia herba rumput betung ditimbang masing-masing 1,25; 2,5; dan 3,75 gram kemudian dilarutkan DI water dalam erlenmeyer 25 mL, lalu dididihkan diatas *hotplate* selama 30 menit dengan suhu 60°C. Setelah itu, ekstrak didinginkan hingga mencapai suhu ruang sekitar 5 menit kemudian disaring didapatkan filtrat yang dapat digunakan untuk sintesis AgNPs (Keshari dkk., 2020).

3.7.3 Prosedur Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Air Herba Rumput Betung

a. Pembuatan larutan standar asam galat dan penetapan panjang gelombang maksimum

Larutan standar induk asam galat dibuat dengan menimbang sebanyak 100 mg asam galat dan dilarutkan DI water dalam labu ukur 100 mL sehingga didapatkan standar induk dengan konsentrasi 1.000 µg/mL. Larutan induk selanjutnya diencerkan hingga diperoleh larutan standar dengan konsentrasi 20; 40; 60; 80; 100; 120; dan 160 µg/mL. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan pada rentang 300-800 nm menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis.

b. Preparasi reagen Folin-Ciocalteu dan Na₂CO₃ 7,5%

Pada penetapan kadar fenolik total pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan pereaksi *Folin-Ciocalteu* dan Na₂CO₃ 7,5%. Pereaksi *Folin-Ciocalteu* diencerkan dengan DI water sebanyak 1:10 v/v. Sedangkan larutan Na₂CO₃ 7,5% dibuat dengan menimbang serbuk Na₂CO₃ sebanyak 7,5 gram dan dilarutkan DI water dalam labu ukur 100 mL.

c. Penetapan Kadar Fenolik Total

Penetapan kadar fenolik total dilakukan dengan masing-masing dipipet 200 μ l standar dan ekstrak air herba rumput betung dimasukkan dalam vial dan ditambahkan dengan 1.000 μ l *Folin-Ciocalteu*, diinkubasi selama 5 menit hingga larutan berubah warna menjadi hijau muda. Kemudian ditambahkan larutan Na_2CO_3 7,5% sebanyak 800 μ l dan diinkubasi selama 30 menit hingga larutan berubah menjadi warna biru muda hingga tua (Antari, 2020).

3.7.4 Optimasi Komposisi dan Kondisi Sintesis AgNPs dengan Bioreduktor
Ekstrak Air Herba Rumput Betung

a. Pembuatan larutan AgNO_3 8 mM

Penimbangan serbuk AgNO_3 8 mM dilakukan sebanyak 0,034 gram dan dilarutkan DI water hingga tanda batas dalam labu ukur 25 mL (Gonzalez dkk., 2020).

b. Optimasi komposisi AgNPs

1) Optimasi konsentrasi ekstrak air herba rumput betung

Ekstrak air herba rumput betung dengan konsentrasi 5, 10, dan 15% masing-masing dioptimasi dengan perbandingan yang sama yaitu 0,5:20:12 (v/v). Masing-masing ekstrak dipipet sebanyak 125 μ l dalam vial, ditambah dengan 5.000 μ l AgNO_3 dan 3.000 μ l DI water. Semua sampel diultrasonik selama 60 menit pada suhu 50°C. Setelah terjadi perubahan warna menjadi coklat tua, larutan AgNPs *discanning* dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 350-600 nm.

2) Optimasi perbandingan volume AgNO_3 dan media pendispersi

Volume prekursor AgNO_3 dan DI water sebagai media pendispersi dioptimasi dengan perbandingan 20:12; 25:12; dan 25:17 (v/v) dengan volume ekstrak yang terkendali yaitu 125 μ l. Masing-masing perbandingan komposisi diultrasonik selama 60 menit pada suhu 50°C. Setelah terjadi perubahan warna menjadi coklat tua, masing-masing sampel larutan AgNPs *discanning* dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 350-600 nm.

c. Optimasi kondisi sintesis AgNPs

1) Optimasi suhu sintesis

Setelah didapatkan komposisi AgNPs yang telah optimum, dilakukan optimasi terhadap suhu sintesis saat sintesis. Suhu sintesis sintesis AgNPs yang diamati pada penelitian ini diantaranya suhu 45, 50, dan 60°C. Larutan sampel dengan komposisi yang optimum masing-masing diultrasonik selama 60 menit pada setiap suhu. Setelah 60 menit dan terjadi perubahan warna menjadi coklat tua, masing-masing sampel larutan AgNPs discanning dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 350-600 nm.

2) Optimasi waktu sintesis

Setelah didapatkan suhu sintesis yang optimum untuk sintesis AgNPs, selanjutnya dilakukan optimasi terhadap waktu sintesis. Waktu sintesis sintesis AgNPs yang diamati pada penelitian ini diantaranya suhu 45, 60, dan 75 menit. Larutan sampel dengan komposisi yang optimum masing-masing diultrasonik pada suhu yang optimum selama waktu yang telah ditetapkan. Perubahan warna diamati menjadi coklat tua, selanjutnya masing-masing sampel larutan AgNPs discanning dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 350-600 nm.

3.7.5 Karakterisasi AgNPs Ekstrak Air Herba Rumput Betung

a. Karakterisasi AgNPs dengan spektrofotometri UV-Vis

Selain dilakukan pengamatan secara visual berupa perubahan warna larutan, AgNPs dengan bioreduktor ekstrak air herba rumput betung dikarakterisasi dengan spektrofotometri UV-Vis dengan pengukuran spektrum absorbansinya pada kisaran panjang gelombang 350-600 nm dan menggunakan DI water sebagai blanko. Suatu partikel dikatakan berukuran nanometer bila memiliki panjang gelombang maksimum antara 400-500 nm (Akar dkk., 2023).

b. Karakterisasi AgNPs dengan spektrofotometri FT-IR

Karakterisasi AgNPs dengan spektrofotometri FT-IR dilakukan untuk identifikasi gugus fungsi yang berperan dalam pembentukan AgNPs yang optimum. Sampel AgNPs yang akan dikarakterisasi diletakkan pada instrumen spektrofotometer FT-IR (Khan dkk., 2018).

c. Karakterisasi AgNPs dengan SEM

Larutan AgNPs ekstrak air herba rumput betung yang optimum sebanyak 500 mL dikeringkan menggunakan *freeze dry* hingga menjadi serbuk kering AgNPs dan selanjutnya sampel diletakkan pada kisi tembaga berlapis karbon dan diamati dibawah mikroskop SEM pada 20 Kv dengan menggunakan perbesaran mulai 5.000, 7.500, 10.000, hingga 15.000x (Miljković dkk., 2020).

d. Karakterisasi AgNPs dengan PSA

Karakterisasi AgNPs dengan *Particle Size Analyzer* (PSA) dilakukan dengan cara dimasukkan ke dalam kuvet 1,5 mL kemudian dimasukkan ke dalam instrument. Karakterisasi ini memberikan hasil berupa Z-Average dan nilai *Polydispersity Indeks* (PDI) untuk melihat ukuran partikel dan sifat distribusinya (Latumakulita dan Suparno, 2022).

3.7.6 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan AgNPs Ekstrak Air Herba Rumput Betung

a. Preparasi larutan DPPH dan pembanding vitamin C

Penimbangan serbuk DPPH (BM 394,32) dilakukan sebanyak 3,9432 mg kemudian serbuk dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 100 mL. Serbuk vitamin C sebagai pembanding ditimbang sebanyak 2 mg dan dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 20 mL maka didapatkan larutan vitamin C konsentrasi 100 µg/mL. Larutan induk 100 µg/mL kemudian diencerkan sehingga didapatkan larutan uji vitamin C dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 µg/mL yang kemudian dimasukkan ke dalam kuvet yang berisi larutan DPPH 1,2 mL masing-masing konsentrasi vitamin C sebanyak 0,3 mL sehingga didapatkan konsentrasi vitamin C akhir sebesar 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 µg/mL (Taba dkk., 2019).

b. Preparasi larutan uji ekstrak air dan larutan uji AgNPs ekstrak air herba rumput betung

Larutan induk ekstrak air herba rumput betung dibuat dengan konsentrasi 5.000 $\mu\text{g/mL}$ yaitu dengan melarutkan 100 mg serbuk kering herba rumput betung dengan menggunakan DI water dalam labu ukur 20 mL lalu dipanaskan dengan *hotplate* selama 30 menit pada suhu 60°C. Larutan induk ekstrak air herba rumput betung kemudian dipipet dan diencerkan dengan DI water dalam labu ukur 5 mL sehingga didapatkan larutan uji ekstrak air herba rumput betung dengan konsentrasi 125, 250, 375, 500, 750, 1.000, dan 1.250 $\mu\text{g/mL}$ yang kemudian dimasukkan ke dalam kuvet yang berisi larutan DPPH 1,2 mL masing-masing konsentrasi larutan uji ekstrak air herba rumput betung sebanyak 0,3 mL sehingga didapatkan konsentrasi larutan uji ekstrak air herba rumput betung akhir sebesar 25, 50, 75, 100, 150, 200, dan 250 $\mu\text{g/mL}$.

Larutan uji AgNPs induk 5.000 $\mu\text{g/mL}$ dibuat dengan menimbang 100 mg serbuk AgNPs kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 20 mL lalu diultrasonik selama 30 menit. Larutan induk AgNPs tersebut diencerkan dengan metanol dalam labu ukur 5 mL sehingga didapatkan larutan uji AgNPs dengan konsentrasi 125, 250, 375, 500, 750, 1.000, dan 1.250 $\mu\text{g/mL}$ yang kemudian dimasukkan ke dalam kuvet yang berisi larutan DPPH 1,2 mL masing-masing konsentrasi larutan uji AgNPs sebanyak 0,3 mL sehingga didapatkan konsentrasi larutan uji AgNPs akhir sebesar 25, 50, 75, 100, 150, 200, dan 250 $\mu\text{g/mL}$ (Dewi, 2022).

c. Optimasi waktu inkubasi

Optimasi waktu inkubasi pada larutan uji dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui waktu yang optimal suatu DPPH telah maksimal bereaksi dengan larutan uji ditandai dengan nilai absorbansi yang sudah tidak mengalami kenaikan/penurunan secara signifikan dan/atau untuk menentukan waktu penyimpanan yang memberikan serapan yang tetap stabil. Panjang gelombang yang digunakan dalam optimasi waktu inkubasi larutan uji ekstrak air herba rumput betung dan AgNPs adalah 517 nm. Nilai absorbansi yang didapatkan dihitung daya

penghambatannya untuk mendapatkan waktu inkubasi optimum di setiap larutan uji (Suryaningrum dkk., 2017).

1) Optimasi waktu inkubasi vitamin C

Optimasi dilakukan dengan mereaksikan 1,2 mL larutan DPPH (1 mM) dengan 0,3 mL larutan vitamin C (10 µg/mL) kemudian diinkubasi di ruang yang gelap. Pengecekan secara berkala dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis setiap 2,5 menit pada menit ke-0 hingga menit ke-50 (Dewi, 2022).

2) Optimasi waktu inkubasi ekstrak air herba rumput betung

Optimasi waktu inkubasi ekstrak air herba rumput betung dilakukan dengan mereaksikan 1,2 mL larutan DPPH (1 mM) dengan 0,3 mL larutan uji ekstrak air herba rumput betung (500 µg/mL) kemudian diinkubasi di ruang yang gelap. Pengecekan secara berkala dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis setiap 2,5 menit pada menit ke-0 hingga menit ke-50 (Suryaningrum dkk., 2017).

3) Optimasi waktu AgNPs ekstrak air herba rumput betung

Optimasi dilakukan dengan mereaksikan 1,2 mL larutan DPPH (1 mM) dengan 0,3 mL larutan uji AgNPs ekstrak air herba rumput betung (500 µg/mL) kemudian diinkubasi di ruang yang gelap. Pengecekan secara berkala dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis setiap 2,5 menit pada menit ke-0 hingga menit ke-50 (Dewi, 2022).

d. Pembuatan larutan blanko

Larutan blanko yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan dibuat dengan cara mencampurkan 1,2 mL DPPH (1 mM) dengan 0,3 mL metanol. Larutan kemudian diinkubasi pada ruangan yang gelap sesuai dengan waktu optimum inkubasi masing-masing larutan uji. Kemudian nilai absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Dewi, 2022).

e. Penetapan aktivitas antioksidan larutan pembanding vitamin C dan larutan uji
Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan memipet larutan sampel uji ekstrak air herba rumput betung, larutan uji AgNPs, dan pembanding vitamin C masing-masing sebanyak 0,3 mL dan dicampur dengan 1,2 mL DPPH (1 mM). Larutan sampel uji vitamin C dan ekstrak air herba rumput betung kemudian diinkubasi di ruangan gelap selama waktu optimum masing-masing sampel uji. Sedangkan larutan sampel uji AgNPs diinkubasi di ruang gelap selama waktu optimum dengan terus divortex. Masing-masing larutan sampel uji kemudian ditentukan absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Dewi, 2022).

Presentase inhibisi antioksidan dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut.

$$\text{Inhibisi DPPH (\%)} = \frac{\text{Absorbansi DPPH} - \text{Absorbansi Larutan Uji}}{\text{Absorbansi DPPH}} \times 100\%$$

f. Pembuatan kurva baku dan penentuan nilai IC_{50}

Pembuatan kurva baku dilakukan dengan menempatkan konsentrasi larutan uji pada sumbu x dan persentase inhibisi antioksidan pada sumbu y. Dari persamaan regresi linier yang didapatkan, dihitung nilai x sebagai nilai IC_{50} dengan nilai y sebesar 50 (Septiana, 2019).

3.7.7 Analisis Data

Analisis data dilakukan secara deskriptif dari hasil karakterisasi AgNPs. Sedangkan untuk hasil penetapan kadar fenolik total ekstrak air herba rumput betung dan aktivitas antioksidan dilakukan kuantitatif dengan analisis statistik menggunakan *One Way* ANOVA. Sebelum diuji ANOVA dipastikan data sudah terdistribusi normal dan homogen yang ditandai dengan nilai $p > 0,01$. Pada penetapan kadar fenolik total dilakukan analisis data dengan tujuan untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan yang bermakna kadar fenolik total (mg GAE/100 mL) diantara beberapa konsentrasi ekstrak air herba rumput betung.

Sedangkan pada pengujian aktivitas antioksidan dilakukan analisis data untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan yang bermakna antara nilai IC_{50} dari larutan uji ekstrak air herba rumput betung, larutan uji AgNPs dengan larutan pembanding vitamin C. Pada uji *One Way* ANOVA, perbedaan dikatakan bermakna bila nilai $p < 0,01$. Selanjutnya data diuji dengan *Post Hoc LSD (Least Significantly Difference)*, perbedaan dikatakan bermakna antar kelompok bila nilai $p < 0,01$ dan terdapat simbol bintang (*) pada *mean difference*.



BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

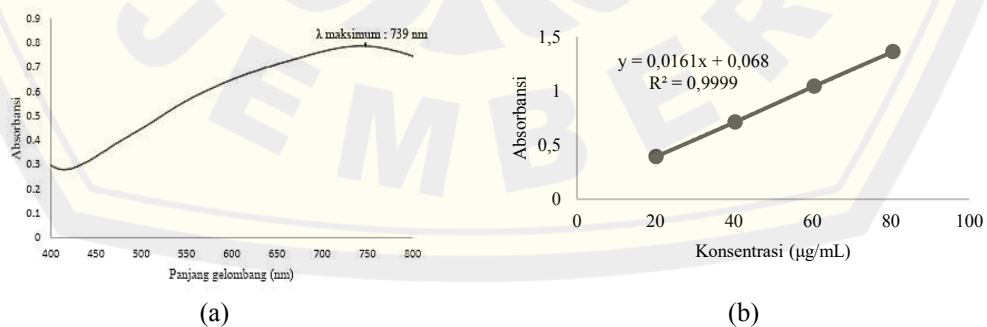
4.1 Ekstraksi Air Herba Rumpu Betung

Ekstrak herba rumput betung yang digunakan untuk sintesis AgNPs dibuat dengan metode infundasi dengan menggunakan pelarut air. Air dipilih sebagai pelarut karena bersifat lebih polar, harganya relatif murah, tidak beracun, dan tidak mudah terbakar dibandingkan dengan pelarut lainnya seperti etanol dan metanol. Penggunaan DI water juga didasarkan dengan DI water yang tidak memiliki kandungan mineral didalamnya sehingga dapat mendukung nanopartikel yang dihasilkan lebih baik karena meminimalkan terjadinya agregasi akibat tingginya mineral (Putra dkk., 2016). Hasil ekstraksi memberikan filtrat berwarna kuning hingga coklat seperti yang ditunjukkan pada Lampiran 4.1.

4.2 Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Air Herba Rumpu Betung

a. Penentuan panjang gelombang maksimum dan pembuatan kurva baku asam galat

Pada penetapan kadar fenolik total memerlukan tahapan penentuan panjang gelombang maksimum dengan tujuan untuk mengetahui panjang gelombang yang memiliki kepekaan analisis maksimum dengan nilai absorbansi yang optimal (Rantung dkk., 2021). Pada penelitian ini, diperoleh panjang gelombang maksimum sebesar 739 nm yang ditunjukkan pada Gambar 4.1. Hasil penentuan panjang gelombang ini sesuai dengan hasil penelitian penetapan kadar fenol total ekstrak etanol umbi bawang dayak dengan panjang gelombang maksimum 739 nm (Muthia dkk., 2023).



Gambar 4. 1 Spektra (a) panjang gelombang maksimum dan (b) kurva baku asam galat

Standar yang digunakan pada penetapan kadar fenol total penelitian ini adalah asam galat. Kurva baku asam galat digunakan untuk menggambarkan hubungan antara absorbansi sebagai respon (y) dan konsentrasi baku (x). Hubungan yang didapatkan dalam bentuk regresi linier $y = bx + a$. Penentuan kurva baku pada penelitian ini dilakukan pada seri konsentrasi 20, 40, 60, dan 80 $\mu\text{g/mL}$ dan didapatkan persamaan regresi $y = 0,0161x + 0,068$ yang ditunjukkan pada Gambar 4.1 dan Lampiran 4.3.

b. Penetapan kadar fenolik total ekstrak air herba rumput betung

Prosedur penetapan kadar fenolik total pada ekstrak herba rumput betung dilakukan dengan reagen *Folin-Ciocalteu*. Pada penelitian ini, kadar fenolik total pada ekstrak air herba rumput betung dinyatakan dalam miligram ekuivalen asam galat dalam 100 mL (mg GAE/100 mL). Hasil penetapan kadar fenolik total ekstrak air herba rumput betung dengan konsentrasi 5, 10, dan 15% ditunjukkan pada Tabel 4.1 dan Lampiran 4.3.

Tabel 4. 1 Hasil penetapan kadar fenolik total ekstrak air herba rumput betung

Sampel	Kadar fenolik total* (mg GAE/100 mL)	RSD (%)
5%	25,942 \pm 0,037 ^a	1,443
10%	60,559 \pm 0,061 ^b	1,492
15%	86,749 \pm 0,085 ^c	1,410

*Fenolik total disajikan dalam rata-rata \pm SD (n=3)

*Pengujian dilakukan dalam 3 kali replikasi

*Notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan (LSD, $p < 0,01$)

Berdasarkan hasil penetapan kadar fenolik total pada ekstrak air herba rumput betung dan analisis data menggunakan *One way ANOVA* dan *Post hoc LSD* dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna kadar fenolik total pada tiga variasi konsentrasi ekstrak air herba rumput betung yang ditandai dengan nilai $p < 0,01$ (Lampiran 4.13). Ekstrak air herba rumput betung 15% mengandung senyawa fenolik tertinggi yaitu 86,749 \pm 0,085 mg GAE/100 mL. Hal ini membuktikan bahwa semakin banyak simplisia yang digunakan dalam ekstraksi maka semakin banyak kandungan senyawa fenoliknya. Senyawa yang dimaksud salah satunya dapat berupa flavonoid. Senyawa flavonoid seperti kuersetin dan kaempferol pada herba rumput betung merupakan senyawa fenolik yang memiliki

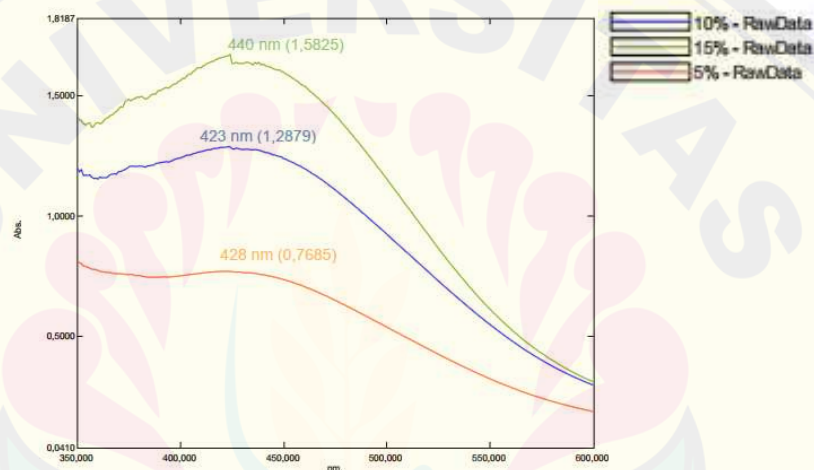
gugus hidroksil lebih dari satu sehingga memiliki karakteristik mudah larut dalam air (Edwinanto dkk., 2018).

4.3 Optimasi Komposisi dan Kondisi Sintesis AgNPs dengan Bioreduktor Ekstrak Air Herba Rumput Betung

4.3.1 Optimasi komposisi AgNPs

a. Optimasi konsentrasi ekstrak air herba rumput betung

Pada penelitian sintesis AgNPs ini digunakan tiga variasi konsentrasi ekstrak air herba rumput betung yaitu 5, 10, dan 15%. Hasil optimasi konsentrasi ekstrak air herba rumput betung ditunjukkan pada Gambar 4.2 dan Lampiran 4.4.



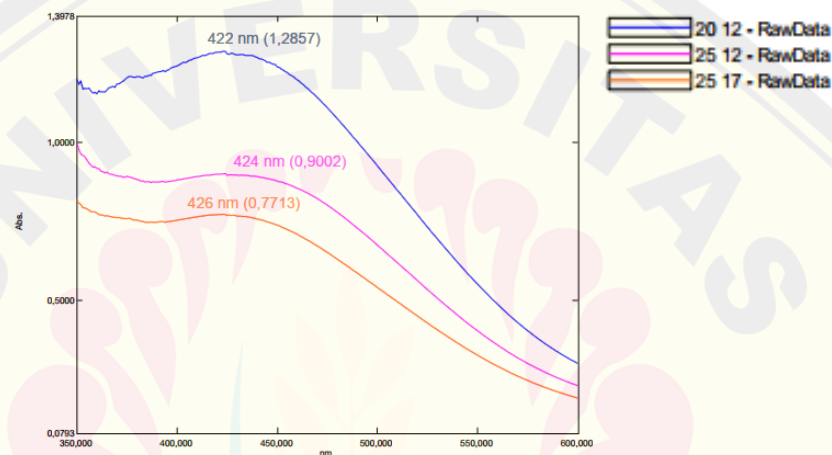
Gambar 4. 2 Spektra hasil optimasi konsentrasi ekstrak air herba rumput betung

Hasil optimasi konsentrasi tiga variasi ekstrak air herba rumput betung memenuhi syarat terbentuknya AgNPs yaitu panjang gelombang maksimum pada rentang 400-500 nm. Namun diantara ketiga hasil optimasi, konsentrasi ekstrak yang terpilih adalah 10% untuk optimasi lebih lanjut karena memiliki panjang gelombang maksimum yang terkecil pada rentang 400-500 nm dengan nilai absorbansi sebesar 1,2879. Panjang gelombang maksimum yang lebih besar menunjukkan ukuran partikel yang semakin besar, sedangkan nilai absorbansi yang lebih besar menunjukkan bahwa jumlah partikel yang terbentuk lebih banyak. Hal ini justru akan meningkatkan kemungkinan terjadinya agregasi pada AgNPs sehingga ukurannya akan menjadi semakin besar dan lebih tidak stabil (Yanti dkk., 2021). Hasil yang ditampilkan pada Tabel 4.2 menunjukkan bahwa

semakin tinggi konsentrasi ekstrak dalam batas tertentu maka semakin besar kemampuannya sebagai agen bioreduktor dan *capping agent* (Septriani dan Muldarisnur, 2022).

b. Optimasi perbandingan volume AgNO_3 dan media pendispersi

Hasil sintesis AgNPs dengan optimasi perbandingan volume AgNO_3 dan media pendispersi 20:12; 25:12; dan 25:17 (v/v) ditunjukkan pada Gambar 4.3 dan Lampiran 4.4.



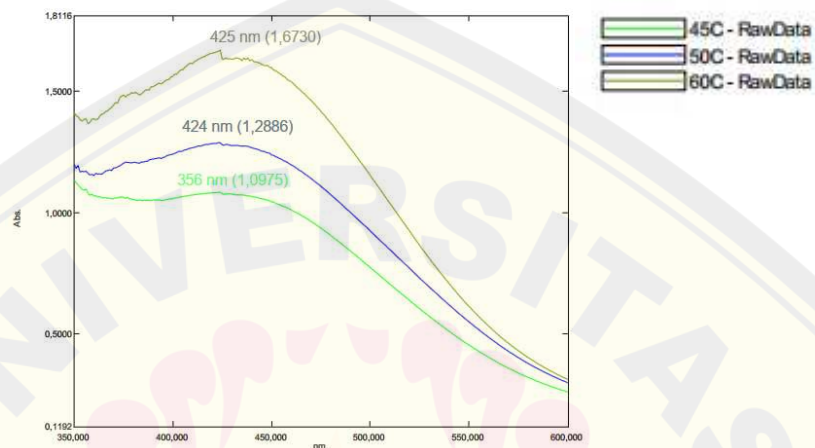
Gambar 4. 3 Spektra hasil optimasi perbandingan volume AgNO_3 dan media pendispersi

Hasil optimasi perbandingan volume AgNO_3 dan media pendispersi pada sintesis AgNPs menggunakan ekstrak air herba rumput betung 10% memberikan hasil yang memenuhi persyaratan terbentuknya AgNPs yaitu panjang gelombang maksimum ketiga variasi perbandingannya memasuki rentang 400-500 nm. Panjang gelombang maksimum pada perbandingan 20:12 (v/v) merupakan terkecil diantara kedua perbandingan lainnya, yang dapat diduga memiliki ukuran AgNPs yang lebih kecil. Hal ini dapat dikaitkan dengan pergeseran panjang gelombang maksimum ke nilai yang lebih besar sebanding dengan peningkatan ukuran partikel yang terbentuk karena agregasi partikel sehingga dapat menurunkan sensitivitas terhadap respon plasmon (Loiseau dkk., 2019). Maka dari ketiga perbandingan yang digunakan, perbandingan 20:12 (v/v) terpilih untuk optimasi lebih lanjut.

4.3.2 Optimasi kondisi sintesis AgNPs

a. Optimasi suhu sintesis

Pada optimasi suhu sintesis sintesis AgNPs 45, 50, dan 60°C dengan waktu sintesis selama 60 menit memberikan hasil yang dapat dilihat pada Gambar 4.4 dan Lampiran 4.4.

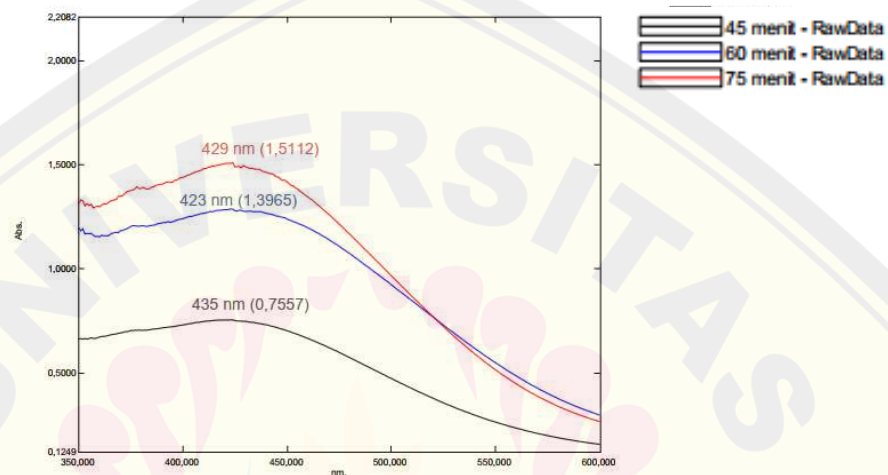


Gambar 4. 4 Spektra hasil optimasi suhu sintesis

Optimasi suhu sintesis memberikan hasil bahwa suhu sintesis 45°C belum dapat menghasilkan AgNPs yang baik karena belum memasuki rentang panjang gelombang maksimum 400-500 nm. Lain halnya dengan suhu sintesis 50°C dan 60°C telah menghasilkan AgNPs dengan panjang gelombang maksimum yang memasuki rentang 400-500 nm. Suhu sintesis merupakan salah satu faktor yang sangat berpengaruh pada pembentukan dan persebaran dari AgNPs yang terbentuk. Semakin tinggi suhu maka kemungkinan untuk terjadinya tumbukan antar partikel secara lebih cepat semakin besar sehingga dapat menyebabkan terjadinya agregasi. Bila agregasi terjadi maka ukuran AgNPs yang terbentuk akan semakin besar dan lebih banyak ditandai dengan nilai absorbansi yang besar. Berdasarkan hasil optimasi suhu sintesis yang dilakukan maka dapat disimpulkan dari ketiga variasi suhu sintesis yang paling optimum dan dapat digunakan pada optimasi lebih lanjut adalah suhu sintesis 50°C karena memiliki nilai panjang gelombang maksimum terkecil pada rentang 400-500 nm (Yanti dkk., 2021).

b. Optimasi waktu sintesis

Pada penelitian ini, setelah didapatkan suhu sintesis yang optimum yaitu 50°C, dilakukan optimasi lanjut berupa waktu sintesis yaitu 45, 60, dan 75 menit. Perbandingan ekstrak 10%, AgNO₃ dan media pendispersi terpilih yaitu 0,5:20:12 (v/v). Hasil optimasi variasi waktu sintesis AgNPs ekstrak air herba rumput betung dapat dilihat pada Gambar 4.5 dan Lampiran 4.4.



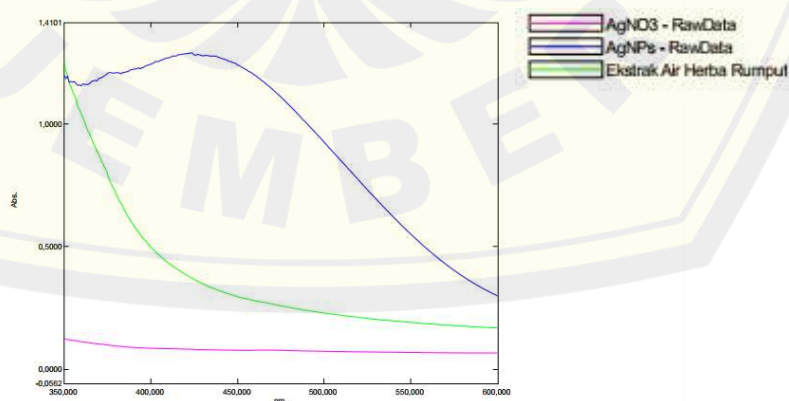
Gambar 4. 5 Spektra hasil optimasi waktu sintesis

Hasil optimasi tiga variasi waktu sintesis AgNPs dengan ekstrak air herba rumput betung memberikan panjang gelombang maksimum yang sesuai dengan rentang terbentuknya AgNPs. Waktu sintesis 60 menit dipilih sebagai waktu sintesis yang optimum karena memberikan panjang gelombang maksimum terkecil pada rentang 400-500 nm. Ketika sintesis dilakukan selama 75 menit, panjang gelombang maksimum yang diperoleh semakin besar yang artinya ukuran partikel yang dihasilkan lebih besar dengan nilai absorbansi yang besar pula sehingga meningkatkan kemungkinan terjadinya agregasi partikel sehingga menurunkan stabilitas dari AgNPs yang terbentuk. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan kondisi optimum suatu proses sintesis AgNPs yang stabil, *monodisperse* dan memiliki ukuran kecil didapatkan selama kurang lebih 1 jam (Alves dan Murray, 2022).

4.4 Karakterisasi AgNPs Ekstrak Air Herba Rumpun Betung

4.4.1 Karakterisasi AgNPs dengan spektrofotometri UV-Vis

Terbentuknya AgNPs yang telah dioptimasi komposisi dan kondisi sintesisnya dapat diamati secara visual dari perubahan warna larutan yang awalnya transparan berubah menjadi coklat tua (Lampiran 4.6). Hal ini karena adanya proses reduksi AgNO_3 secara bertahap dari Ag^+ menjadi Ag^0 (nanopartikel) oleh agen bioreduktor ekstrak tanaman. Perubahan warna tersebut sering disebut sebagai proses osilasi plasmon permukaan yaitu osilasi kolektif dari elektron dalam pita konduksi. Intensitas warna larutan bervariasi tergantung konsentrasi AgNO_3 , semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi pula intensitas warnanya (Bakshi dkk., 2015). Selain itu, intensitas warna larutan AgNPs dipengaruhi oleh ukuran, bentuk nanopartikel, dan molekul yang berperan sebagai agen bioreduktor selama proses sintesis (Rosman dkk., 2020). Dengan spektrofotometri UV-Vis, suatu partikel dapat dikatakan memiliki ukuran nanometer bila panjang gelombang maksimumnya berada pada rentang 400-500 nm (Akar dkk., 2023). Panjang gelombang maksimum dari AgNPs sebagai produk kemudian dibandingkan dengan panjang gelombang maksimum AgNO_3 sebagai prekursor dan ekstrak air herba rumpun betung sebagai agen bioreduktor. Adanya perbedaan pada panjang gelombang maksimum disetiap larutan uji menunjukkan bahwa terdapat perubahan dari reaktan menjadi suatu produk yaitu AgNPs. Hasil karakterisasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada rentang 350-600 nm ditunjukkan pada Gambar 4.6; Tabel 4.2; dan Lampiran 4.6.



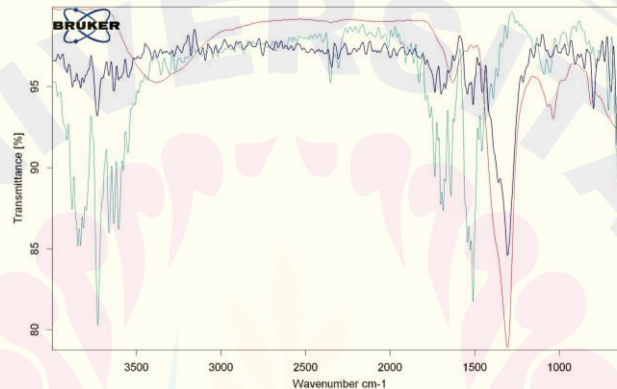
Gambar 4. 6 Spektra karakterisasi spektrofotometri UV-Vis

Tabel 4. 2 Karakterisasi spektrofotometri UV-Vis

Larutan uji	Hasil karakterisasi spektrofotometri UV-vis	
	λ maks (nm)	Absorbansi
Ekstrak air herba rumput betung	296	4,0788
AgNO ₃	355	0,1176
AgNPs ekstrak air herba rumput betung	423	1,3965

4.4.2 Karakterisasi AgNPs dengan spektrofotometri FT-IR

Hasil karakterisasi FT-IR yaitu herba rumput betung, AgNO₃, dan AgNPs ekstrak air herba rumput betung dapat diamati pada Gambar 4.7; Tabel 4.3; dan Lampiran 4.7.



Gambar 4. 7 Spektra karakterisasi spektrofotometri FT-IR AgNO₃ (peak biru), ekstrak air herba rumput betung (peak hijau), dan AgNPs (peak merah)

Tabel 4. 3 Hasil karakterisasi FT-IR

Sampel	Hasil identifikasi spektra FT-IR	
	Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Dugaan jenis ikatan
AgNO ₃	1305.69	-NO ₂ (nitro)
Ekstrak air herba rumput betung	3729.12	Regangan O-H, N-H Regangan C=O (asam, aldehid, keton, amida, ester) Regangan C=C (aromatik dan alifatik), C=N
	3663.30	
	3606.09	
	1686.30	
	1640.56	
AgNPs	1509.60	C=C-H, Ar-H bending C-H bending C-O
	708.57	
	1306.16	

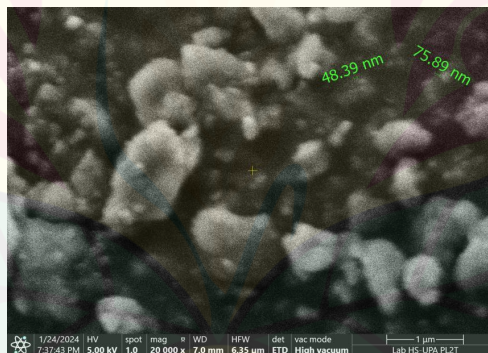
Berdasarkan spektra dari AgNO₃, ekstrak air herba rumput betung, dan AgNPs memiliki bilangan gelombang yang berbeda-beda. Keberadaan gugus fungsional pada penelitian ini dilakukan pada kisaran bilangan gelombang 4.000–600 cm⁻¹. Berdasarkan hasil karakterisasi FT-IR, diketahui bahwa pada spektra FT-IR ekstrak air herba rumput betung terdapat puncak pada bilangan gelombang antara 3750-3000 cm⁻¹ menunjukkan adanya regangan O-H yang diduga berasal

dari senyawa fenolik. Ditemukan pula puncak serapan pada kisaran 1900-1650 cm^{-1} dengan tipe senyawa berupa ikatan C=O intensitas kuat, yang diduga karena adanya gugus fungsi karbonil.

Berdasarkan perbandingan dengan spektra ekstrak dan AgNO_3 , pada spektra AgNPs hanya ditemukan adanya puncak serapan untuk jenis ikatan C-H dan C-O yang diduga berperan sebagai *capping agent*. Perbedaan dan/atau pergeseran bilangan gelombang serta hilangnya puncak serapan pada bilangan gelombang tertentu dikaitkan dengan keterlibatan gugus fungsi tersebut pada sintesis pembentukan AgNPs. Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa gugus fungsi -OH yang diduga berasal dari senyawa fenolik berperan sebagai agen bioreduktor dan stabilisator saat proses sintesis AgNPs (Nalawati dkk., 2021).

4.4.3 Karakterisasi AgNPs dengan SEM

Hasil karakterisasi SEM AgNPs ekstrak air herbal rumput betung yang telah optimum ditunjukkan pada Gambar 4.8 dan Lampiran 4.8.



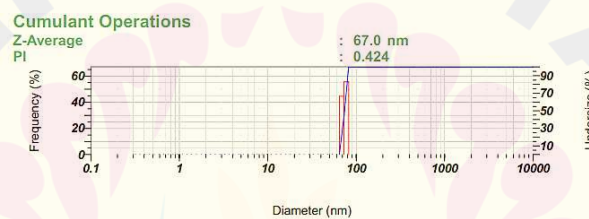
Gambar 4. 8 Hasil karakterisasi SEM

Berdasarkan hasil analisis SEM diperoleh bahwa AgNPs yang terbentuk memiliki ukuran dan bentuk partikel yang tidak seragam. Rata-rata bentuk partikel yang nampak adalah bulat (*sferis*) dengan ukuran partikel yang berkisar antara 48,39-75,89 nm. Bentuk partikel AgNPs yang berbeda-beda dipengaruhi oleh berbagai parameter, seperti suhu, pH, jumlah ekstrak dan waktu reaksi. Akan tetapi faktor terpenting yang mempengaruhi perbedaan bentuk partikel adalah biomekul yang terkandung dalam ekstrak tanaman tersebut (Sánchez dkk., 2016).

Ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel AgNPs dipengaruhi oleh stabilitas larutan AgNPs. Stabilitas AgNPs yang rendah mengakibatkan terjadinya aglomerasi. Aglomerasi tersebut menyebabkan ukuran partikel dan distribusi partikelnya tidak seragam (Ristian, 2019). Ukuran dari nanopartikel hasil sintesis dipengaruhi oleh kinetika reaksi yang terjadi. Hal-hal yang memengaruhi kinetika reaksi sintesis AgNPs antara lain konsentrasi AgNO_3 , ekstrak tanaman yang digunakan, dan suhu sintesis. Dengan adanya perubahan ketiga parameter ini, dapat menghasilkan karakteristik AgNPs yang berbeda (Erjaee dkk., 2017).

4.4.4 Karakterisasi AgNPs dengan PSA

Hasil karakterisasi PSA AgNPs ekstrak air herba rumput betung yang telah optimum ditunjukkan pada Gambar 4.9 dan Lampiran 4.9.



Gambar 4. 9 Hasil karakterisasi PSA

Hasil karakterisasi AgNPs ekstrak air herba rumput betung dengan menggunakan PSA telah memenuhi syarat ukuran nanopartikel yaitu 67,0 nm di antara rentang ukuran 1-100 nm serta memiliki indeks polidispersitas yang tergolong tipe *mid-range polydispersity* yaitu antara 0,08-0,7 (Osmani dkk., 2014). Hasil penelitian ini memiliki tipe indeks polidispersitas yang sama yaitu 0,4 dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Suhartati dkk (2020) dari suatu AgNPs yang menggunakan agen bioreduktor minyak tandan buah kelapa sawit. Menurut Ranoszek-Soliwoda dkk (2019), sebagian besar *green synthesis* AgNPs dengan menggunakan ekstrak tanaman akan memberikan tipe indeks polidispersitas berupa *polydisperse* bukan *monodisperse*. Hal ini diduga karena penggunaan agen bioreduktor berupa ekstrak tanaman yang memiliki tingkat kemurnian yang tergolong rendah sehingga kemampuannya untuk mereduksi prekursor AgNO_3 sekaligus sebagai agen penstabil AgNPs yang terbentuk juga dinilai kurang optimal.

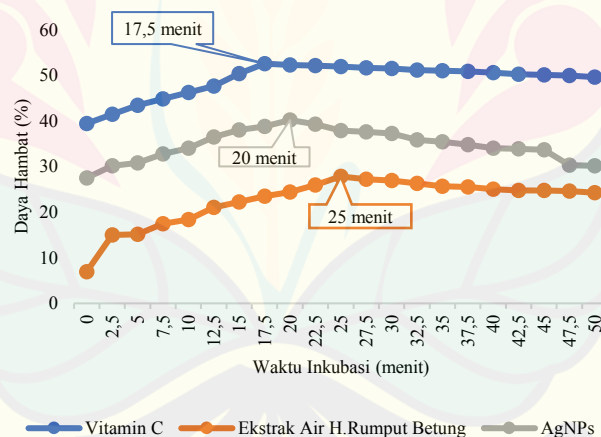
Nilai indeks polidispersitas yang semakin kecil menandakan bahwa hasil sintesis AgNPs semakin stabil karena memiliki distribusi partikel yang lebih

seragam atau homogen (*monodisperse*) serta memperkecil dan/atau memperlambat kemungkinan terjadinya agregasi hingga sedimentasi. Sedangkan nilai indeks polidispersitas yang besar menandakan bahwa distribusi dari partikel semakin tidak seragam atau heterogen (*polydisperse*) dan memperbesar kemungkinan terjadi agregasi menjadi partikel-partikel yang berukuran lebih besar. Pada penelitian ini, nilai PI 0,424 sebagai tipe *mid-range polydispersity* sudah dikatakan sebagai nilai PI dengan algoritma distribusi yang baik dengan frekuensi ukuran partikel keseluruhan <100 nm (Abd Karim dkk., 2021).

4.5 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan AgNPs Ekstrak Air Herba Rumpun Betung

4.5.1 Optimasi waktu inkubasi

Tahapan awal penentuan aktivitas antioksidan pada penelitian ini adalah optimasi waktu inkubasi masing-masing larutan uji yaitu pembanding vitamin C, ekstrak air herba rumpun betung, dan AgNPs ekstrak air herba rumpun betung. Hasil optimasi waktu inkubasi ditunjukkan pada Gambar 4.10 dan Lampiran 4.10.



Gambar 4. 10 Hasil optimasi waktu inkubasi

Waktu inkubasi optimum untuk vitamin C, ekstrak air herba rumpun betung dan AgNPs berturut – turut yaitu pada menit ke-17,5 dengan persentase daya hambat sebesar 52,550%; pada menit ke-25 dengan persentase daya hambat sebesar 27,821%; dan pada menit ke-20 dengan persentase daya hambat sebesar 40,185%. Waktu inkubasi vitamin C 17,5 menit sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Pramiastuti dkk (2021).

4.5.2 Aktivitas antioksidan

Penentuan persentase daya hambat dilakukan dengan tiga kali replikasi pada masing-masing larutan uji. Hasil penetapan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Tabel 4.4 dan Lampiran 4.11 sampai 4.13.

Tabel 4. 4 Nilai IC₅₀ dan kategori aktivitas antioksidan

Sampel	Nilai IC ₅₀ * (µg/mL)	Kategori aktivitas antioksidan
Vitamin C	1,762 ± 0,028 ^a	Sangat kuat
Ekstrak air herba rumput betung	171,594 ± 0,977 ^b	Lemah
AgNPs	76,604 ± 0,846 ^c	Kuat

*Nilai IC₅₀ disajikan dalam rata-rata ± SD (n=3)

*Pengujian dilakukan dalam 3 kali replikasi

*Notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan (LSD, $p < 0,01$)

Interpretasi dari nilai IC₅₀ adalah semakin kecil nilai IC₅₀ suatu sampel uji maka semakin kuat aktivitas antioksidan yang dimilikinya. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan dari ketiga sampel serta analisis data yang telah dilakukan dengan *One way* ANOVA dan *Post hoc* LSD dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan nilai IC₅₀ yang bermakna antara ketiga sampel uji ditandai dengan nilai $p < 0,01$ (Lampiran 4.14). Persen penghambatan tertinggi dimiliki oleh vitamin C sebagai kontrol positif dengan nilai IC₅₀ yang tergolong sangat kuat yaitu < 50 µg/mL. Sedangkan ekstrak air herba rumput betung memiliki persen penghambatan serta nilai IC₅₀ lebih rendah dan dikategorikan sebagai antioksidan yang lemah (151-200 µg/mL) dibandingkan dengan AgNPs dengan bioreduktor ekstrak air herba rumput betung dikategorikan sebagai antioksidan yang kuat karena berada di kisaran 50-100 µg/mL (Novatama dkk., 2016). Hal ini membuktikan bahwa AgNPs yang disintesis dengan ekstrak air rumput betung memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraknya. Selain itu, bila dibandingkan dengan prekursoranya yaitu AgNO₃ yang bahkan diketahui tidak memiliki aktivitas antioksidan, AgNPs hasil sintesis dengan ukuran yang berkisar antara 1-100 nm memiliki aktivitas antioksidan yang baik dengan kategori kuat (Rahayu dan Yanti, 2018).

Berdasarkan penelitian *green synthesis* AgNPs yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak air herba rumput betung dapat berperan sebagai agen bioreduktor dan *capping agent*. Hal ini dibuktikan dengan hasil optimasi ketiga

variasi konsentrasi ekstrak yang dapat menghasilkan AgNPs dengan panjang gelombang maksimum yang memenuhi syarat yaitu pada rentang 400-500 nm. Namun konsentrasi ekstrak 10% yang memiliki kadar fenolik total sebesar $60,559 \pm 0,061$ mg GAE/100 mL lebih dipilih untuk optimasi lebih lanjut dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak 15% yang memiliki kadar fenolik total lebih tinggi yaitu sebesar $86,749 \pm 0,085$ mg GAE/100 mL. Hal ini dikarenakan sintesis AgNPs dengan konsentrasi ekstrak 15% memberikan panjang gelombang maksimum lebih besar dibandingkan konsentrasi ekstrak 10%. Semakin besarnya panjang gelombang maksimum yang dihasilkan menandakan semakin besar pula ukuran dari partikelnya. Semakin besar ukuran partikel akan meningkatkan kemungkinan terjadinya aglomerasi sehingga AgNPs menjadi tidak stabil dan mudah rusak. Maka terdapat beberapa hal yang kemudian penting untuk diperhatikan guna meminimalkan terjadinya aglomerasi AgNPs diantaranya yaitu konsentrasi ekstrak sebagai agen bioreduktor, konsentrasi AgNO_3 sebagai prekursor, suhu, dan waktu sintesis (Erjaee dkk., 2017). Peran ekstrak air herba rumput betung sebagai agen bioreduktor juga didukung dengan hasil karakterisasi FT-IR yang menandakan bahwa puncak serapan dari senyawa fenolik yang terdapat dalam ekstrak air herba rumput betung tidak ditemukan pada AgNPs hasil sintesis, maka dapat disimpulkan bahwa senyawa fenolik tersebut telah berperan dalam sintesis AgNPs.

Pada uji aktivitas antioksidan, diketahui hubungan antara ukuran partikel dari ekstrak air herba rumput betung dengan AgNPs. Berdasarkan panjang gelombang maksimum yang dimiliki oleh ekstrak yaitu sebesar 296 nm menunjukkan bahwa ukuran partikel lebih kecil dibandingkan dengan AgNPs yang dihasilkan yaitu 423 nm, serta memiliki nilai absorbansi sebesar 4,0788 lebih besar dibandingkan absorbansi AgNPs yaitu 1,3965. Nilai absorbansi menunjukkan jumlah partikel dalam sampel uji. Maka dari itu, ekstrak air herba rumput betung memiliki jumlah partikel yang lebih banyak dan memungkinkan terjadinya aglomerasi sehingga partikel tidak stabil (Nurkhaliza, 2023). Sehingga pada uji aktivitas antioksidan didapatkan kesimpulan bahwa ukuran AgNPs yang berkisar 1-100 nm dengan sifat lebih stabil memberikan aktivitas antioksidan yang lebih baik.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan:

- a. Ekstrak air herba rumput betung memiliki kadar fenolik total sebagai berikut: ekstrak 5% ($25,942 \pm 0,037$ mg GAE/100 mL); ekstrak 10% ($61,503 \pm 0,089$ mg GAE/100 mL); dan ekstrak 15% ($86,749 \pm 0,085$ mg GAE/100 mL).
- b. Ekstrak air herba rumput betung 10% dapat berperan sebagai agen bioreduktor dan *capping agent* pada *green synthesis* AgNPs dengan komposisi optimal ekstrak:AgNO₃:media pendispersi yaitu 0,5:20:12 (v/v) dan kondisi sintesis yang optimal dilakukan pada 50°C selama 60 menit.
- c. AgNPs dengan agen bioreduktor ekstrak air herba rumput betung memiliki panjang gelombang maksimum 423 nm dengan nilai absorbansi sebesar 1,3965 serta memiliki diameter rata-rata 67 nm dengan *mid-range polydispersity* sebesar 0,424. Hasil SEM menunjukkan rata-rata bentuk partikel *sferis*. Hasil FT-IR membuktikan bahwa gugus fungsi senyawa fenolik berperan dalam *green synthesis* AgNPs sebagai agen bioreduktor dan *capping agent*.
- d. AgNPs ekstrak air herba rumput betung memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 76,604 µg/mL lebih kuat dibandingkan ekstrak air herba rumput betung.

5.2 Saran

Saran yang dapat dilakukan untuk melengkapi hasil penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Perlu dilakukan optimasi konsentrasi AgNO₃ yang digunakan sebagai prekursor sintesis AgNPs untuk menghasilkan AgNPs dengan karakteristik yang lebih baik berkaitan dengan kecenderungan aglomerasi partikel.
- b. Dilakukan *screening* fitokimia pada ekstrak air herba rumput betung untuk mengetahui senyawa kimia yang berperan sebagai agen bioreduktor dalam sintesis AgNPs.
- c. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait toksisitas AgNPs ekstrak air herba rumput betung baik *in vitro* maupun *in vivo* dan aktivitasnya selain antioksidan, misalnya antijamur, antibakteri, antikanker, dll.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbasi, E., M. Milani, S. F. Aval, M. Kouhi, A. Akbarzadeh, H. T. Nasrabadi, P. Nikasa, S. W. Joo, Y. Hanifehpour, K. Nejati-Koshki, dan M. Samiei. 2016. Silver nanoparticles: synthesis methods, bio-applications and properties. *Critical Reviews in Microbiology*. 42(2):173–180.
- Abd Karim, F., R. Tungadi, dan N. A. Thomas. 2021. BIOSINTESIS nanopartikel perak ekstrak etanol 96% daun kelor (*Moringa oleifera*) dan uji aktivitasnya sebagai antioksidan. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*. 2(1):32–41.
- Akar, Z., S. Akay, N. Ejder, dan A. Özad Düzgün. 2023. Determination of the cytotoxicity and antibiofilm potential effect of *Equisetum arvense* silver nanoparticles. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. (0123456789)
- Alves, M. F. dan P. G. Murray. 2022. Biological synthesis of monodisperse uniform-size silver nanoparticles (AgNPs) by fungal cell-free extracts at elevated temperature and pH. *Journal of Fungi*. 8(5)
- Antari, I. A. W. 2020. *Penentuan Kadar Fenolik Total Dan Model Klasifikasi Serbuk Daun Jambu Biji Kristal (Psidium guajava L.) Berbeda Dataran Dengan Menggunakan Spektroskopi NIR Dan Kemometrik. Skripsi. Digital Repository Universitas Jember.*
- Azeez, L., A. Lateef, dan S. A. Adebisi. 2017. Silver nanoparticles (AgNPs) biosynthesized using pod extract of cola nitida enhances antioxidant activity and phytochemical composition of *Amaranthus caudatus* Linn. *Applied Nanoscience (Switzerland)*. 7(1–2):59–66.
- Bakshi, M., S. Ghosh, dan P. Chaudhuri. 2015. Green synthesis, characterization and antimicrobial potential of silver nanoparticles using three mangrove plants from indian sundarban. *BioNanoScience*. 5(3):162–170.
- Bamal, D., A. Singh, G. Chaudhary, M. Kumar, M. Singh, N. Rani, P. Mundlia, dan A. R. Sehrawat. 2021. Silver nanoparticles biosynthesis, characterization, antimicrobial activities, applications, cytotoxicity and safety issues: an updated review. *Nanomaterials*. 11(8)
- Batir-Marin, D., C. Mircea, M. Boev, A. F. Burlec, A. Corciova, A. Fifere, A. Iacobescu, O. Cioanca, L. Verestiuc, dan M. Hancianu. 2021. In vitro antioxidant, antitumor and photocatalytic activities of silver nanoparticles synthesized using equisetum species: a green approach. *Molecules*. 26(23):1–18.
- Bayda, S., M. Adeel, T. Tuccinardi, M. Cordani, dan F. Rizzolio. 2020. The history of nanoscience and nanotechnology: from chemical-physical applications to nanomedicine. *Molecules*. 25(1):1–15.
- Bouafia, A., S. E. Laouini, A. S. A. Ahmed, A. V. Soldatov, H. Algarni, K. F. Chong, dan G. A. M. Ali. 2021. The recent progress on silver nanoparticles: synthesis and electronic applications. *Nanomaterials*. 11(9):1–30.
- Chaiyana, W., C. Punyoyai, S. Somwongin, P. Leelapornpisid, K. Ingkaninan, N. Waranuch, J. Srivilai, N. Thitipramote, W. Wisuitiprot, R. Schuster, H. Viernstein, dan M. Mueller. 2017. Inhibition of *5 α -reductase*, *il-6 secretion*,

- and oxidation process of *Equisetum debile* Roxb. ex vaucher extract as functional food and nutraceuticals ingredients. *Nutrients*. 9(10)
- Chand, K., D. Cao, D. Eldin Fouad, A. Hussain Shah, A. Qadeer Dayo, K. Zhu, M. Nazim Lakhan, G. Mehdi, dan S. Dong. 2020. Green synthesis, characterization and photocatalytic application of silver nanoparticles synthesized by various plant extracts. *Arabian Journal of Chemistry*. 13(11):8248–8261.
- Chemistry, A. 2019. Jurnal kimia sains dan aplikasi the potential of endophytic fungal extract isolated from cinnamon. 22(6):275–282.
- Das, G., J. K. Patra, dan H. S. Shin. 2020. Biosynthesis, and potential effect of fern mediated biocompatible silver nanoparticles by cytotoxicity, antidiabetic, antioxidant and antibacterial, studies. *Materials Science and Engineering C*. 114(April):111011.
- Dewi, N. P. 2022. *Green Synthesis Nanopartikel Perak Ekstrak Kulit Terong Ungu (Solanum melongena L.) Dan Aktivitasnya Sebagai Antioksidan*. Repository Universitas Jember.
- Edwinanto, L., E. Septiadi, L. R. Nurfazriah, K. S. Anastasya, dan N. Pranata. 2018. Phytochemical features of *Moringa oleifera* leaves as anticancer. *Journal of Medicine & Health*. 2(1):680–688.
- Erjaee, H., H. Rajaian, dan S. Nazifi. 2017. Synthesis and characterization of novel silver nanoparticles using *Chamaemelum nobile* extract for antibacterial application. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*. 8(2)
- Gahlawat, G. dan A. R. Choudhury. 2019. A review on the biosynthesis of metal and metal salt nanoparticles by microbes. *RSC Advances*. 9(23):12944–12967.
- Gensdarmes, F. 2015. Methods of detection and characterization. *Nanoengineering: Global Approaches to Health and Safety Issues*. 55–84.
- Gonzalez, G., G. Rosas, dan S. Borjas. 2020. Biosynthesis and characterization of ag nanoparticles using the *Equisetum hyemale* L . plant extract. . *Microscopy and Microanalysis*. 26(S2):2394–2395.
- Ijaz, I., E. Gilani, A. Nazir, dan A. Bukhari. 2020. Detail review on chemical, physical and green synthesis, classification, characterizations and applications of nanoparticles. *Green Chemistry Letters and Reviews*. 13(3):59–81.
- Keshari, A. K., R. Srivastava, P. Singh, V. B. Yadav, dan G. Nath. 2020. Antioxidant and antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized by *Cestrum nocturnum*. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*. 11(1):37–44.
- Khan, A. U., Q. Yuan, Z. U. H. Khan, A. Ahmad, F. U. Khan, K. Tahir, M. Shakeel, dan S. Ullah. 2018. An eco-benign synthesis of AgNPs using aqueous extract of longan fruit peel: antiproliferative response against human breast cancer cell line mcf-7, antioxidant and photocatalytic deprivation of methylene blue. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 183(2):367–373.
- Laid, T. M., K. Abdelhamid, L. S. Eddine, dan B. Abderrhmane. 2021. Optimizing the biosynthesis parameters of iron oxide nanoparticles using central composite design. *Journal of Molecular Structure*. 1229:129497.
- Latumakulita, I. I. dan S. Suparno. 2022. Characterization of silver nanoparticle

- electrolysis method with uv-vis spectrometer, atomic absorption spectrophotometer, and particle size analyzer. *Kasuari: Physics Education Journal (KPEJ)*. 5(1):42–52.
- Li, C. Y., H. J. Wang, J. M. Cao, J. Zhang, dan X. Q. Yu. 2014. Bioreducible cross-linked polymers based on g1 peptide dendrimer as potential gene delivery vectors. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 87:413–420.
- Loiseau, A., V. Asila, G. Boitel-Aullen, M. Lam, M. Salmain, dan S. Boujday. 2019. Silver-based plasmonic nanoparticles for and their use in biosensing. *Biosensors*. 9(2)
- Maarebia, R. Z., A. Wahid Wahab, dan P. Taba. 2019. Synthesis and characterization of silver nanoparticles using water extract of sarang semut (*Myrmecodia pendans*) for blood glucose sensors. *Jurnal Akta Kimia Indonesia (Indonesia Chimica Acta)*. 12(1):29.
- May, A., G. Ang, N. P. Peteros, dan M. M. Uy. 2018. Cytotoxicity and antioxidant activity of *Equisetum debile* Roxb. (equisetaceae) from bukidnon, philippines. *Pharmacology and Life Sciences Bull. Env. Pharmacol. Life Sci*. 7(9):22–27.
- Miljković, M., V. Lazić, S. Davidović, A. Milivojević, J. Papan, M. M. Fernandes, S. Lanceros-Mendez, S. P. Ahrenkiel, dan J. M. Nedeljković. 2020. Selective antimicrobial performance of biosynthesized silver nanoparticles by horsetail extract against e. coli. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*. 30(7):2598–2607.
- Mousavi, S. M., S. A. Hashemi, Y. Ghasemi, A. Atapour, A. M. Amani, A. Savar Dashtaki, A. Babapoor, dan O. Arjmand. 2018. Green synthesis of silver nanoparticles toward bio and medical applications: review study. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*. 46(sup3):S855–S872.
- Muenraya, P., S. Sawatdee, T. Srichana, dan A. Atipairin. 2022. Silver nanoparticles conjugated with colistin enhanced the antimicrobial activity against gram-negative bacteria. *Molecules*. 27(18):1–24.
- Muhaimin, M. dan W. A. Mustaqim. 2021. *Equisetum ramosissimum* desf. equisetaceae. 391–399.
- Murty, V. R. 2010. Microbial production of silver nanoparticles. 5(1):135–140.
- Mustapha, T., N. Misni, N. R. Ithnin, A. M. Daskum, dan N. Z. Unyah. 2022. A review on plants and microorganisms mediated synthesis of silver nanoparticles, role of plants metabolites and applications. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 19(2)
- Muthia, R., W. Bin Jamaludin, dan L. Damayanti. 2023. Karakterisasi dan penetapan kadar fenol total ekstrak etanol umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* Urb.) berdasarkan variasi waktu tumbuh tanaman. *Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy) Special Edition*. 83–93.
- Nalawati, A. N., N. E. Suyatma, dan D. I. Wardhana. 2021. SINTESIS nanopartikel perak (npag) dengan bioreduktor ekstrak biji jarak pagar dan kajian aktivitas antibakterinya. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 32(1):98–106.
- Nurkhaliza, F. 2023. Deteksi cepat dan selektif logam berat dengan nanopartikel perak dan β -cyclodextrin sebagai reduktor dan agen penstabil.
- Pan, L., B. Ge, dan F. Zhang. 2017. Indetermination of particle sizing by laser diffraction in the anomalous size ranges. *Journal of Quantitative Spectroscopy*

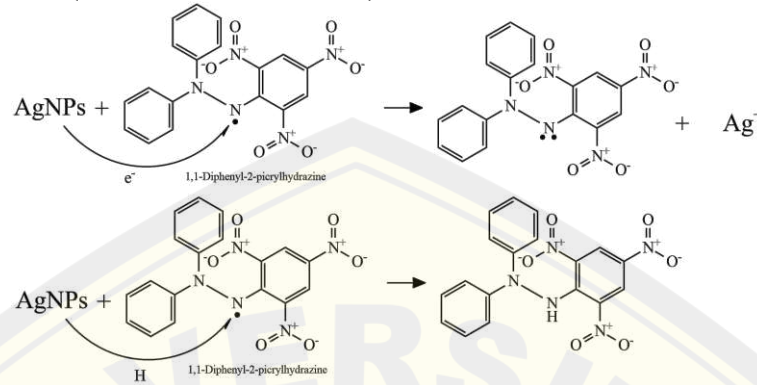
and Radiative Transfer. 199:20–25.

- Patil, S., G. Chaudhari, J. Paradeshi, R. Mahajan, dan B. L. Chaudhari. 2017. Instant green synthesis of silver-based herbo-metallic colloidal nanosuspension in *Terminalia bellirica* fruit aqueous extract for catalytic and antibacterial applications. *3 Biotech*. 7(1):1–12.
- Pramiastuti, O., F. K. Murti, S. Mulyati, U. Khasanah, R. H. A. Alquraisi, A. Afifah, A. K. N. Sundawa, E. Nandayani, dan Y. Pamungkas. 2021. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol temu blenyeh (*Curcuma purpurascens blumae*) dengan metode dpph (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Prosiding Seminar Nasional Kesehatan*. 1:29–37.
- Priya, R. S., D. Geetha, dan P. S. Ramesh. 2016. Antioxidant activity of chemically synthesized AgNPs and biosynthesized *Pongamia pinnata* leaf extract mediated agnps – a comparative study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 134:308–318.
- Putra, A. R., A. H. Gunawan, E. Lestari, P. Teknologi, R. Ba, P. Osmolal, T. A. S. Senyawa, B. Dan, K. I. T. Radiofarmaka, dan K. I. T. Radiopharmaceuticals. 2016. Kebutuhan. 2016(November):146–152.
- Rafique, M., I. Sadaf, M. S. Rafique, dan M. B. Tahir. 2017. A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*. 45(7):1272–1291.
- Rahayu, W. dan O. Yanti. 2018. Manggis (*Garcinia mangostana* L.). 7(3):286–291.
- Ranoszek-Soliwoda, K., E. Tomaszewska, K. Małek, G. Celichowski, P. Orłowski, M. Krzyzowska, dan J. Grobelny. 2019. The synthesis of monodisperse silver nanoparticles with plant extracts. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 177:19–24.
- Rantung, O., A. I. Korua, dan H. Datau. 2021. Perbandingan ekstraksi vitamin c dari 10 jenis buah-buahan menggunakan sonikasi dan homogenisasi. *Indonesian Journal of Laboratory*. 4(3):124–133.
- Ristian, I. 2019. Nanokomposit antibakteri berbasis pati dan nanopartikel perak (agnps). *Al-Kimia*. 7(1):39–45.
- Riyaz Ali Osmani, Shailesh Thirumaleshwar, Rohit Rajendra Bhosale, dan Parthasarathi Kulkarni. 2014. Nanosponges: the spanking accession in drug delivery-an updated comprehensive review. *Der Pharmacia Sinica*. 5(6):7–21.
- Rosman, N. S. R., N. A. Harun, I. Idris, dan W. I. W. Ismail. 2020. Eco-friendly silver nanoparticles (AgNPs) fabricated by green synthesis using the crude extract of *Marine polychaete, Marphysa moribidii*: biosynthesis, characterisation, and antibacterial applications. *Heliyon*. 6(11):e05462.
- Sánchez, G. R., C. L. Castilla, N. B. Gómez, A. García, R. Marcos, dan E. R. Carmona. 2016. Leaf extract from the endemic plant *Peumus boldus* as an effective bioproduct for the green synthesis of silver nanoparticles. *Materials Letters*. 183:255–260.
- Septiano, A. F., S. Susilo, dan N. E. Setyaningsih. 2021. Analisis citra hasil scanning electron microscopy energy dispersive x-ray (sem edx) komposit resin timbal dengan metode contrast to noise ratio (cnr). *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*. 44(2):81–85.
- Septriani, Y. dan M. Muldarisnur. 2022. Kontrol ukuran nanopartikel perak dengan

- variasi konsentrasi ekstrak kulit buah manggis. *Jurnal Fisika Unand*. 11(1):68–74.
- Siddiqi, K. S., A. Husen, dan R. A. K. Rao. 2018. A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. *Journal of Nanobiotechnology*. 16(1)
- Solaiman, A. H. M. 2015. Antimicrobial and antioxidant activity analysis of some medicinal plants of bangladesh. *Advances in Plants & Agriculture Research*. 2(4)
- Stephanie Mutiara Novatama*), E. K. dan S. 2016. Info artikel. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 5(3):3–6.
- Suhartati, S., I. S. Saputra, D. Rahmi, Y. Yulizar, dan S. Sudirman. 2020. Bioreduction and characterization of silver nanoparticles from oil palm empty fruit bunch. *Jurnal Sains Materi Indonesia*. 21(4):177.
- Suryaningrum, R. D., N. M. Puspawati, dan N. P. A. Astiti. 2017. AKTIVITAS antioksidan ekstrak tumbuhan paku ekor kuda (*Equisetum debile* L.) terhadap peroksidasi lipid plasma darah mencit (*Mus musculus*). *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*. 4(1):48.
- T, R., S. MA, N. H, A. H, dan A. M. 2018. Biochemical, phytochemical and antioxidant composition of *Equisetum debile* Roxb. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*. 07(04)
- Taba, P., N. Y. Parmitha, dan S. Kasim. 2019. Sintesis nanopartikel perak menggunakan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) sebagai bioreduktor dan uji aktivitasnya sebagai antioksidan. *Indo. J. Chem. Res*. 7(1):51–60.
- Tărăboanță, I., A. F. Burlec, S. Stoleriu, A. Corciovă, A. Fifere, D. Batir-Marin, M. Hăncianu, C. Mircea, I. Nica, A. C. Tărăboanță-Gamen, dan S. Andrian. 2023. Influence of the loading with newly green silver nanoparticles synthesized using *Equisetum sylvaticum* on the antibacterial activity and surface hardness of a composite resin. *Journal of Functional Biomaterials*. 14(8)
- Theafelicia, Z. dan S. N. Wulan. 2023. Comparison of various methods for testing antioxidant activity (DPPH, ABTS, and FRAP) on black tea (*Camellia sinensis*) zerlinda. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 24(1):35–44.
- Wei, L., J. Lu, H. Xu, A. Patel, Z. S. Chen, dan G. Chen. 2015. Silver nanoparticles: synthesis, properties, and therapeutic applications. *Drug Discovery Today*. 20(5):595–601.
- Yanti, S., M. S. Arif, dan B. Yusuf. 2021. SINTESIS dan stabilitas nanopartikel perak (AgNPs) menggunakan trinitrat. *Prosiding Seminar Nasional Kimia 2021 Jurusan Kimia FMIPA UNMUL*. 142–146.
- Yen, H. J., S. H. Hsu, dan C. L. Tsai. 2009. Cytotoxicity and immunological response of gold and silver nanoparticles of different sizes. *Small*. 5(13):1553–1561.
- Zhang, X. F., Z. G. Liu, W. Shen, dan S. Gurunathan. 2016. Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. *International Journal of Molecular Sciences*. 17(9)

LAMPIRAN

Lampiran 2. 1 Mekanisme reaksi DPPH dengan AgNPs sebagai antioksidan (Hermanto dkk., 2023)



Lampiran 4. 1 Hasil Determinasi Tanaman



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU
Jl. Lahor 87 Kota Batu
Jl. Raya 228 Kejayan Kabupaten Pasuruan
Jl. Kolonel Sugiono 457 - 459 Kota Malang
Email : materiamedicabatu@jatimprov.go.id



Nomor : 000.9.3/ 2778/ 102.20/ 2023
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Rumput Betung**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : ALVIANI DWI KARMILASARI
NIM/NIP/NIK : 202210101029
FAKULTAS : FARMASI, UNIVERSITAS JEMBER

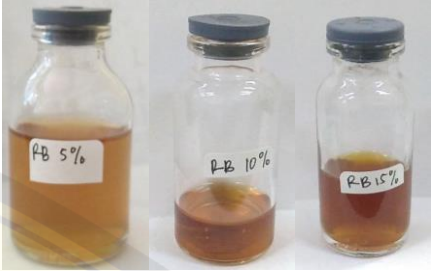
- Perihal determinasi tanaman rumput betung
 - Kerajaan : Plantae
 - Divisi : Polyodiophyta
 - Kelas : Polyodiopsida
 - Subkelas : Equisetidae
 - Ordo : Equisetales
 - Famili : Equisetaceae
 - Genus : Equisetum
 - Jenis : *Equisetum ramosissimum subsp. debile* (Roxb. ex Vaucher) Hauke
 - Sinonim : *Equisetum debile* Roxb. ex Vaucher
 - Nama Umum : Rumput betung, rumput bolong, paku ekor kuda, bambu air (Indonesia), tatoropongan (Sunda), tropongan, pctongan (Jawa), sodisoan (Madura).
 - Kunci Determinasi : 1a-17b-18b-19a-20a:Equisetaceae-1.Equisetum-*E. debile*.
- Morfologi : Habitus: Terpa (paku), menahun, habitat terrestrial, tinggi dapat mencapai 1 m. Batang: Merayap horizontal di dalam tanah (rim pang), bertuas-ruas, dan berongga; percabangan monopodial yang khas berbentuk uliran atau lingkaran, cabang batang berdiri tegak, tiap ruas terdapat rambut akar. Daun: Menempel pada batang, berbentuk sisik (mikrofil), dan ujung runcing. Akar: Serabut, menempel disepanjang rim pang. Sporangium: Tersusun dalam bentuk gada atau kerucut pada ujung batang atau cabang membentuk strobilus.
- Bagian yang digunakan : Herba.
- Penggunaan : Penelitian.
- Daftar Pustaka
 - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 16 Oktober 2023

KEP. MATAHERBAL LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU
dr. RAJAN YULIANTI, M.M.
Pembina Tk. I
NIP. 19710711 200012 2 002

Lampiran 4. 2 Proses Ekstraksi Air Herba Rumput Betung

Proses	Hasil Ekstraksi
 <p>Ekstraksi simplisia herba rumput betung dengan DI water pada suhu 60°C selama 30 menit</p>	 <p>Ekstrak air herba rumput betung 5, 10, dan 15%</p>

Lampiran 4. 3 Perhitungan Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Air Herba Rumput Betung**1. Pembuatan Kurva Baku Asam Galat**

a) **Larutan Induk** : $(100,7 \text{ mg}/100 \text{ mL}) \times 1000 = 1000 \text{ } \mu\text{g}/\text{mL}$

b) Pengenceran

Larutan standar 1 : $(0,5 \text{ mL}/25 \text{ mL}) \times 1000 = 20,14 \text{ } \mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan standar 2 : $(2 \text{ mL}/50 \text{ mL}) \times 1000 = 40,28 \text{ } \mu\text{g}/\text{mL}$

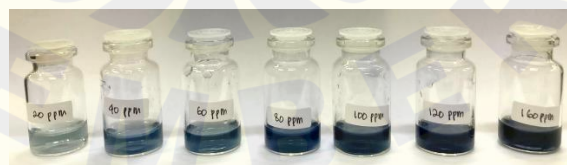
Larutan standar 3 : $(3 \text{ mL}/50 \text{ mL}) \times 1000 = 60,42 \text{ } \mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan standar 4 : $(4 \text{ mL}/50 \text{ mL}) \times 1000 = 80,56 \text{ } \mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan standar 5 : $(5 \text{ mL}/50 \text{ mL}) \times 1000 = 100,7 \text{ } \mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan standar 6 : $(3 \text{ mL}/25 \text{ mL}) \times 1000 = 120,84 \text{ } \mu\text{g}/\text{mL}$

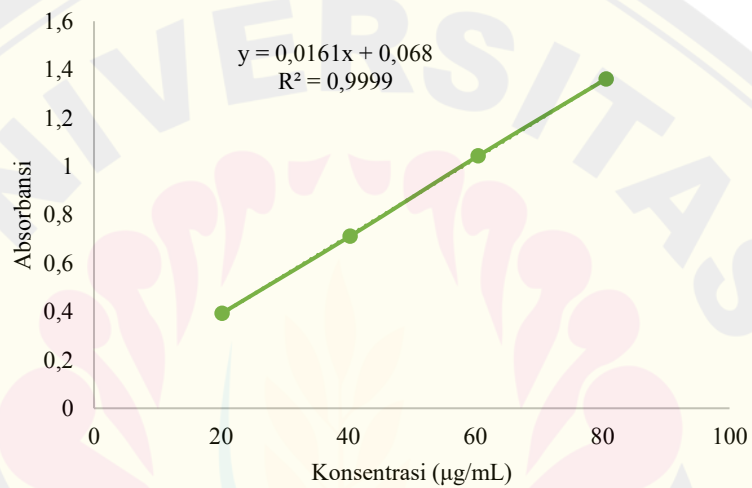
Larutan standar 7 : $(4 \text{ mL}/25 \text{ mL}) \times 1000 = 160,12 \text{ } \mu\text{g}/\text{mL}$



Asam galat + *Folin-Ciocalteu* + Na_2CO_3

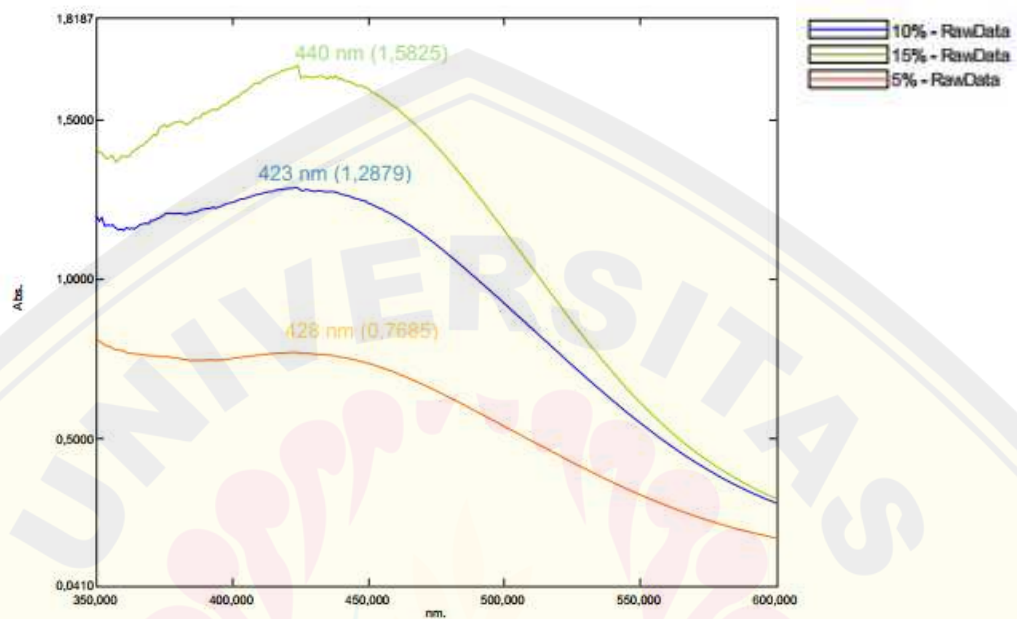
c) Kurva Baku Asam Galat

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
20,14	0,393
40,28	0,711
60,42	1,043
80,56	1,362
100,7	1,637
120,84	1,958
160,12	2,579

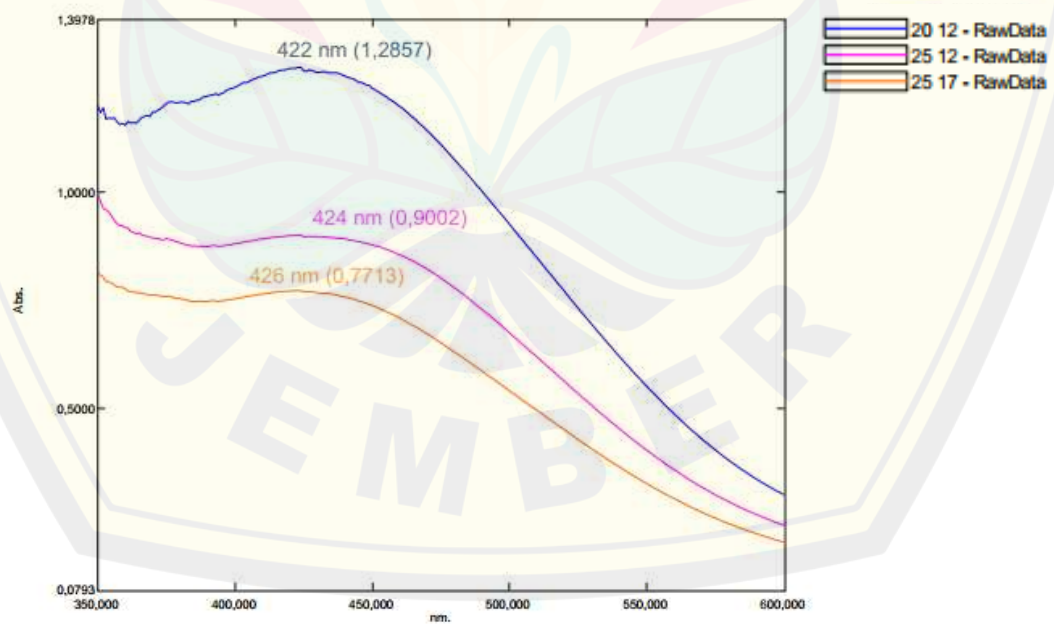


Lampiran 4. 4 Optimasi Komposisi dan Kondisi Sintesis AgNPs dengan Bioreduktor Ekstrak Air Herba Rumpun Betung

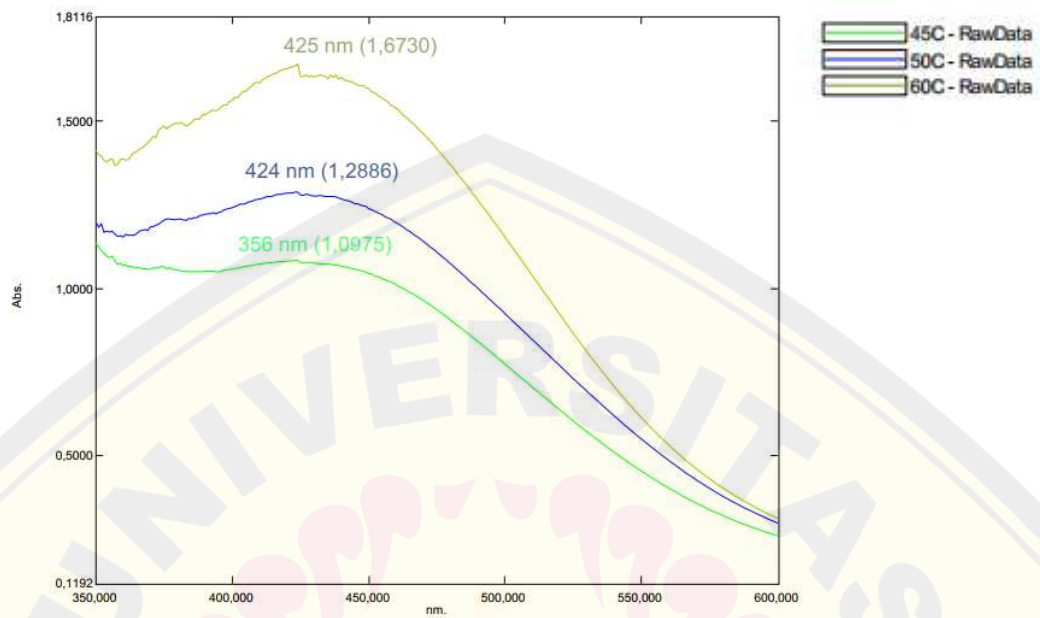
- 1) Optimasi komposisi AgNPs
 - a. Optimasi konsentrasi ekstrak air herba rumpun betung



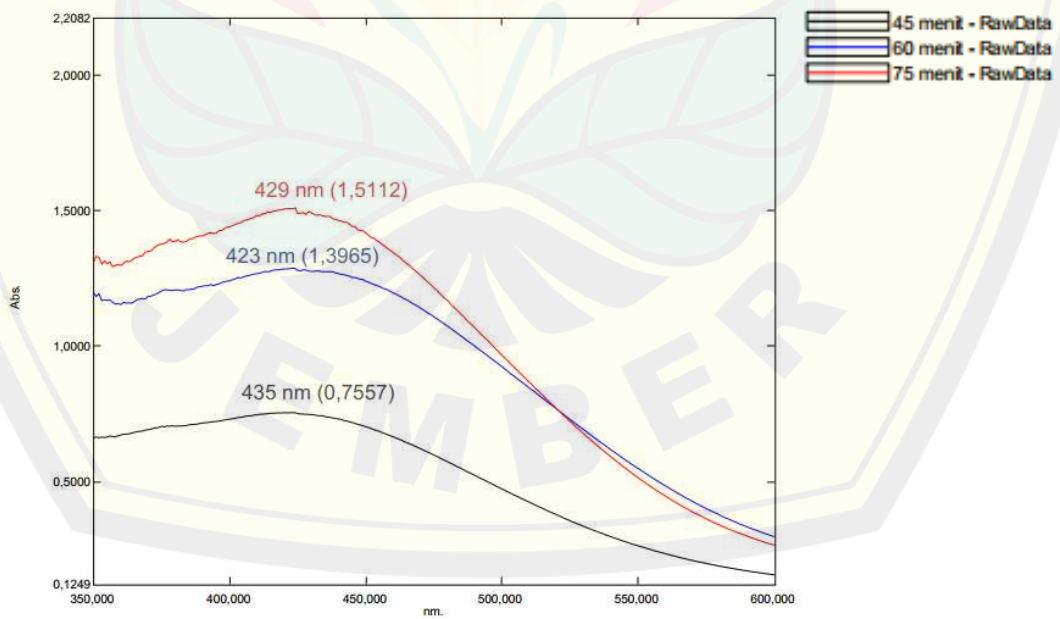
- b. Optimasi perbandingan AgNO_3 dan media pendispersi



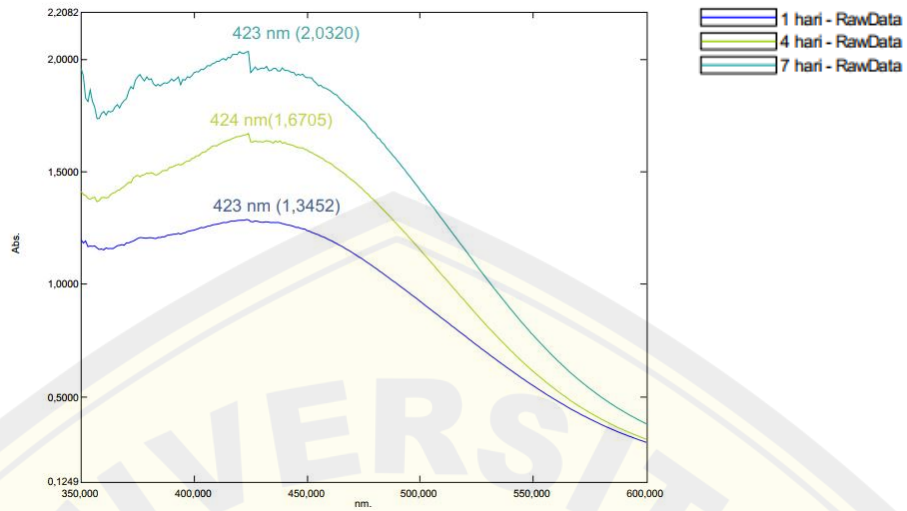
2) Optimasi kondisi sintesis
a. Optimasi suhu sintesis



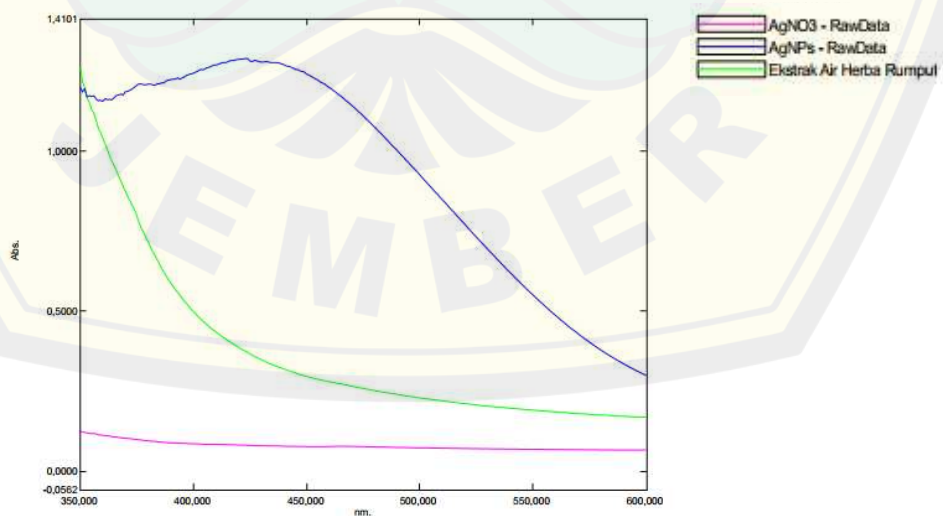
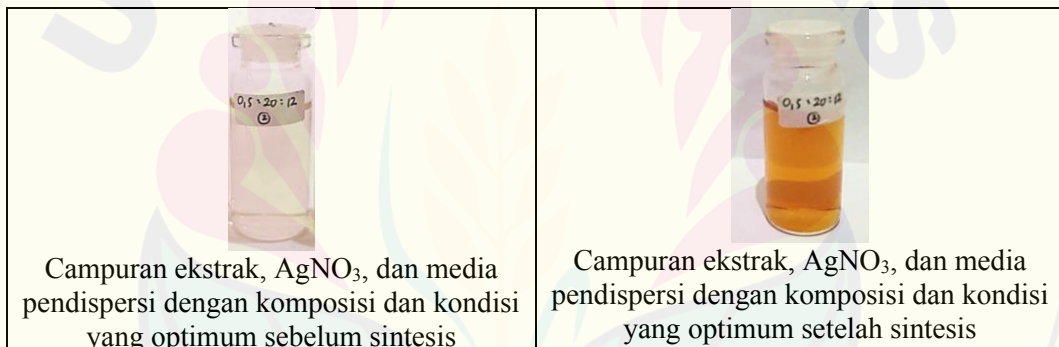
b. Optimasi waktu sintesis



Lampiran 4. 5 Uji Stabilitas AgNPs

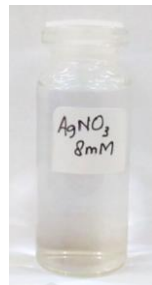


Lampiran 4. 6 Karakterisasi AgNPs dengan spektrofotometri UV-Vis

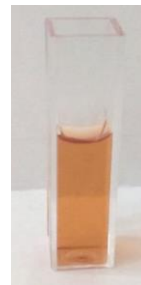




Ekstrak Air Herba Rumpun Betung



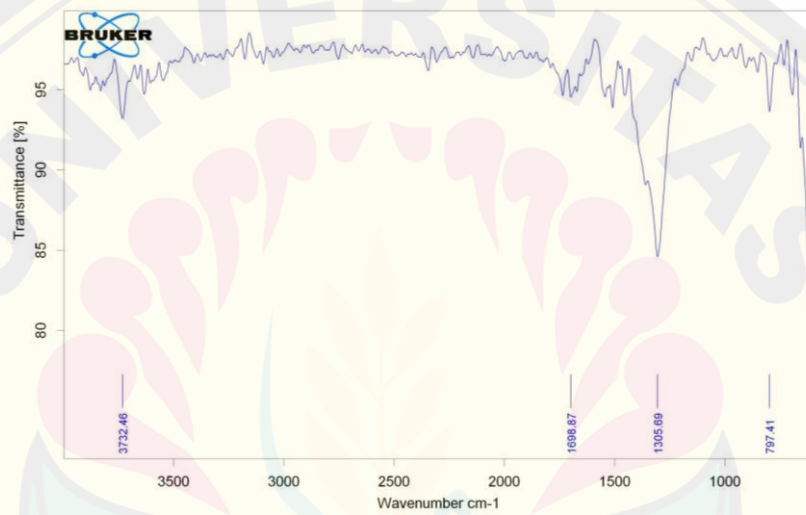
AgNO₃ 8 mM



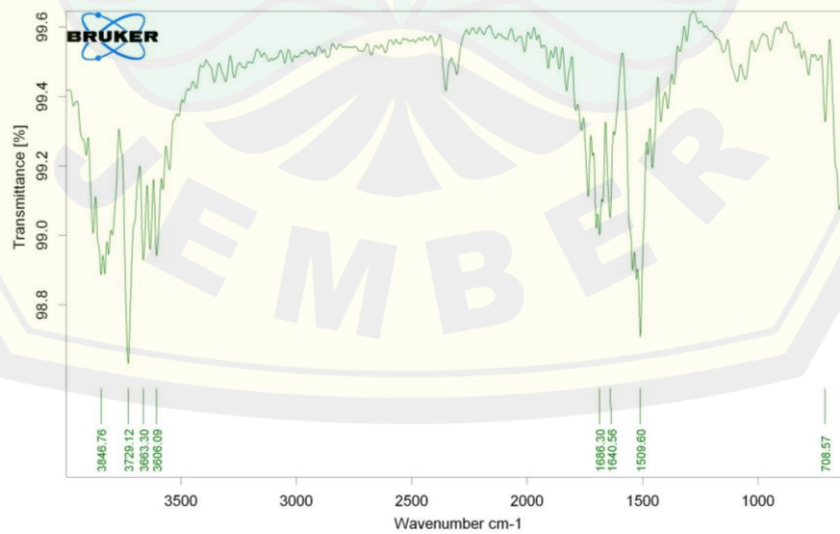
AgNPs

Lampiran 4. 7 Karakterisasi AgNPs dengan spektrofotometri FT-IR

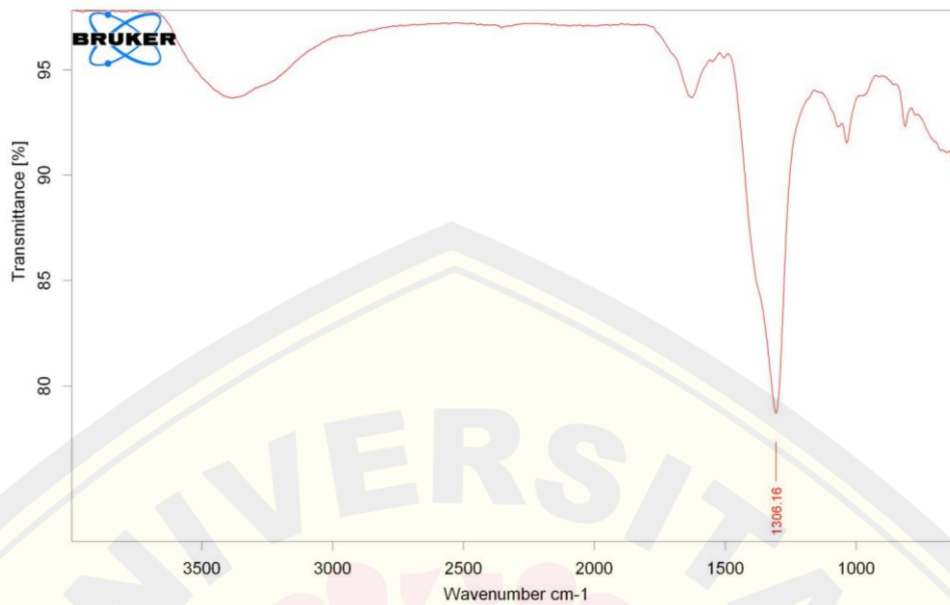
1. Spektra AgNO₃



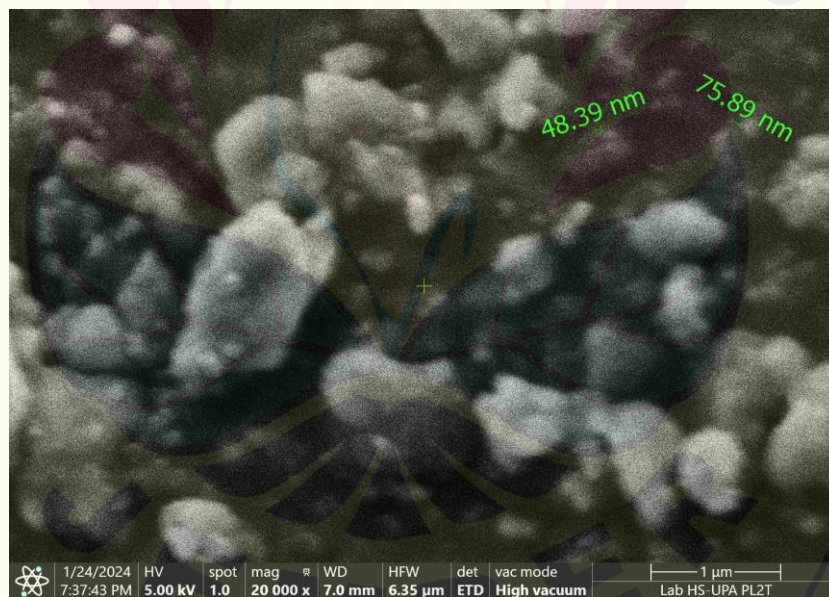
2. Spektra Ekstrak Air Herba Rumpun Betung



3. Spektra AgNPs



Lampiran 4. 8 Karakterisasi AgNPs dengan SEM



Lampiran 4. 9 Karakterisasi AgNPs dengan PSA

AgNPs2Herba(75,2000)3.nsz

Measurement Results

Date : 11 January 2024 09:42:04
 Measurement Type : Particle Size
 Sample Name : AgNPsHERBARBETUNG2
 Scattering Angle : 90
 Temperature of the Holder : 24.9 °C
 Dispersion Medium Viscosity : 0.897 mPa·s
 Transmission Intensity before Meas. : 28101
 Distribution Form : Broad
 Distribution Form(Dispersity) : Polydisperse
 Representation of Result : Scattering Light Intensity
 Count Rate : 291 kCPS

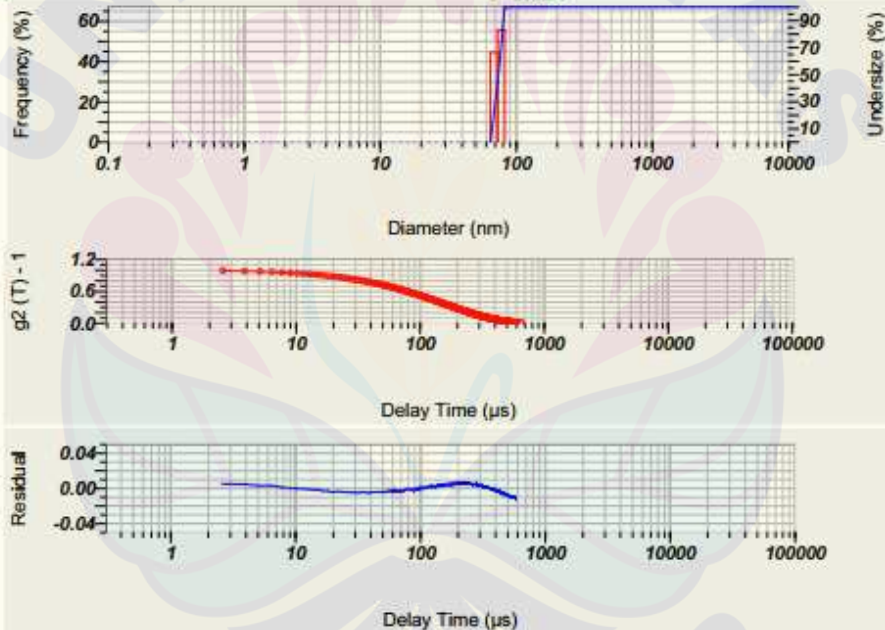
Calculation Results

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	1.00	73.5 nm	4.4 nm	73.8 nm
2	--	-- nm	-- nm	-- nm
3	--	-- nm	-- nm	-- nm
Total	1.00	73.5 nm	4.4 nm	73.8 nm

Cumulant Operations

Z-Average : 67.0 nm

PI : 0.424



Lampiran 4. 10 Hasil Optimasi Waktu Inkubasi Pengujian Antioksidan**1. Optimasi Waktu Inkubasi Pembanding Vitamin C**

Waktu (menit)	Absorbansi Vit C	Absorbansi Kontrol	Daya hambat (%)
0	0,392	0,647	39,413
2,5	0,379	0,647	41,422
5	0,366	0,647	43,431
7,5	0,357	0,647	44,822
10	0,348	0,647	46,213
12,5	0,339	0,647	47,604
15	0,321	0,647	50,386
17,5	0,307	0,647	52,550
20	0,309	0,647	52,241
22,5	0,310	0,647	52,087
25	0,311	0,647	51,932
27,5	0,313	0,647	51,623
30	0,314	0,647	51,468
32,5	0,316	0,647	51,159
35	0,317	0,647	51,005
37,5	0,318	0,647	50,850
40	0,320	0,647	50,541
42,5	0,322	0,647	50,232
45	0,323	0,647	50,077
47,5	0,324	0,647	49,9227
50	0,326	0,647	49,614

2. Optimasi Waktu Inkubasi Ekstrak Air Herba Rumpot Betung

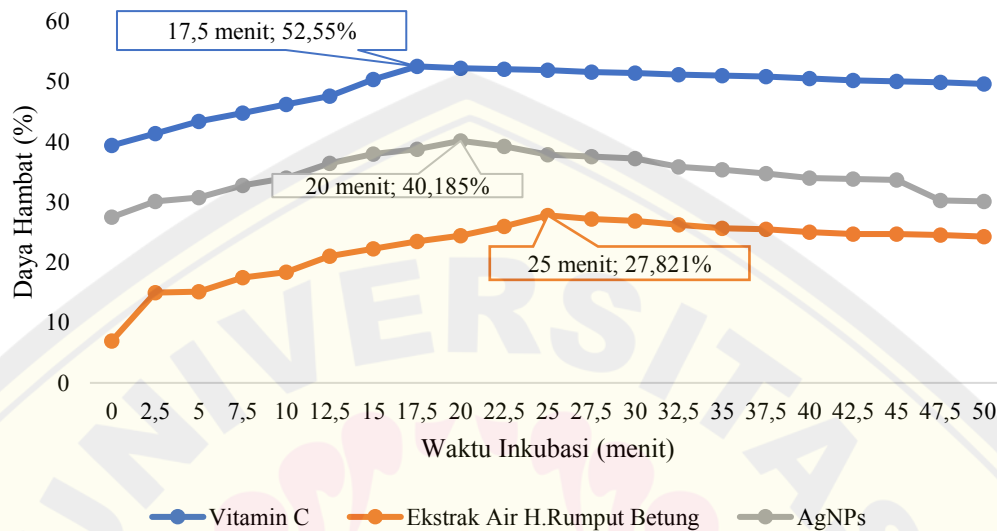
Waktu (menit)	Absorbansi Ekstrak	Absorbansi Kontrol	Daya hambat (%)
0	0,602	0,647	6,955
2,5	0,550	0,647	14,992
5	0,549	0,647	15,147
7,5	0,534	0,647	17,465
10	0,528	0,647	18,393
12,5	0,511	0,647	21,020
15	0,503	0,647	22,257

17,5	0,495	0,647	23,493
20	0,489	0,647	24,420
22,5	0,479	0,647	25,966
25	0,467	0,647	27,821
27,5	0,471	0,647	27,202
30	0,473	0,647	26,893
32,5	0,477	0,647	26,275
35	0,481	0,647	25,657
37,5	0,482	0,647	25,502
40	0,485	0,647	25,039
42,5	0,487	0,647	24,730
45	0,487	0,647	24,730
47,5	0,488	0,647	24,575
50	0,490	0,647	24,266

3. Optimasi Waktu Inkubasi AgNPs

Waktu (menit)	Absorbansi AgNPs	Absorbansi Kontrol	Daya hambat (%)
0	0,469	0,647	27,512
2,5	0,452	0,647	30,139
5	0,448	0,647	30,757
7,5	0,435	0,647	32,767
10	0,427	0,647	34,003
12,5	0,411	0,647	36,476
15	0,401	0,647	38,022
17,5	0,396	0,647	38,794
20	0,387	0,647	40,185
22,5	0,393	0,647	39,258
25	0,402	0,647	37,867
27,5	0,404	0,647	37,558
30	0,406	0,647	37,249
32,5	0,415	0,647	35,858
35	0,418	0,647	35,394
37,5	0,422	0,647	34,776
40	0,427	0,647	34,003
42,5	0,428	0,647	33,849

45	0,429	0,647	33,694
47,5	0,451	0,647	30,294
50	0,452	0,647	30,139



Lampiran 4. 11 Penentuan Persentase Daya Hambat dan IC50 Vitamin C

1. Vitamin C Replikasi 1

Pembuatan larutan induk : $(0,0021 \text{ mg}/20 \text{ mL}) \times 1.000 = 105 \text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$

Pengenceran

Larutan sampel 1 : diambil 0,25 mL dari induk ad 5 mL = 5,25 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan sampel 2 : diambil 0,50 mL dari induk ad 5 mL = 10,50 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan sampel 3 : diambil 0,75 mL dari induk ad 5 mL = 15,75 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan sampel 4 : diambil 1,00 mL dari induk ad 5 mL = 21,00 $\mu\text{g}/\text{mL}$

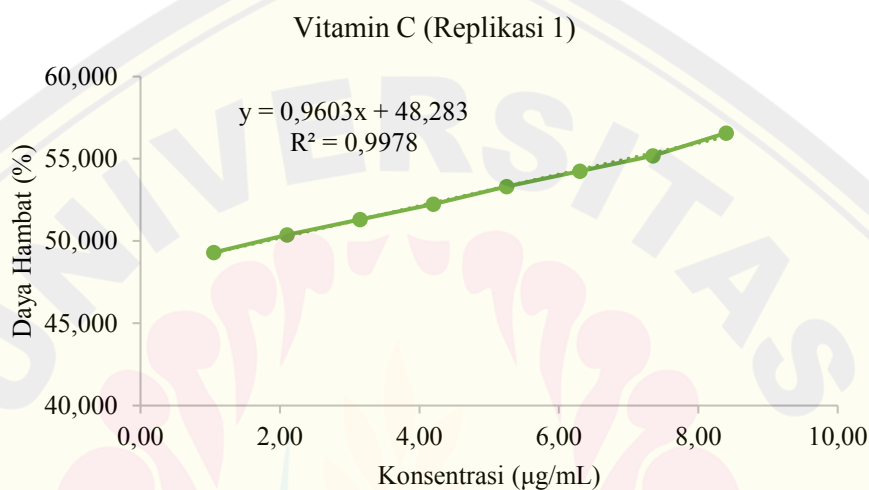
Larutan sampel 5 : diambil 1,25 mL dari induk ad 5 mL = 26,25 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan sampel 6 : diambil 1,50 mL dari induk ad 5 mL = 31,50 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan sampel 7 : diambil 1,75 mL dari induk ad 5 mL = 36,75 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan sampel 8 : diambil 2,00 mL dari induk ad 5 mL = 42,00 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi vitamin C	Daya hambat (%)
5,25	1,05	0,647	0,328	49,304
10,50	2,10	0,647	0,321	50,386
15,75	3,15	0,647	0,315	51,314
21,00	4,20	0,647	0,309	52,241
26,25	5,25	0,647	0,302	53,323
31,50	6,30	0,647	0,296	54,250
36,75	7,35	0,647	0,29	55,178
42,00	8,40	0,647	0,281	56,569



Perhitungan IC₅₀

$$y = 0,9603x + 48,283$$

$$50 = 0,9603x + 48,283$$

$$x = 1,788 \mu\text{g/mL}$$

2. Vitamin C Replikasi 2

Pembuatan larutan induk : $(0,0020 \text{ mg}/20 \text{ mL}) \times 1.000 = 100 \mu\text{g/mL}$

Pengenceran

Larutan sampel 1 : diambil 0,25 mL dari induk ad 5 mL = 5 µg/mL

Larutan sampel 2 : diambil 0,50 mL dari induk ad 5 mL = 10 µg/mL

Larutan sampel 3 : diambil 0,75 mL dari induk ad 5 mL = 15 µg/mL

Larutan sampel 4 : diambil 1,00 mL dari induk ad 5 mL = 20 µg/mL

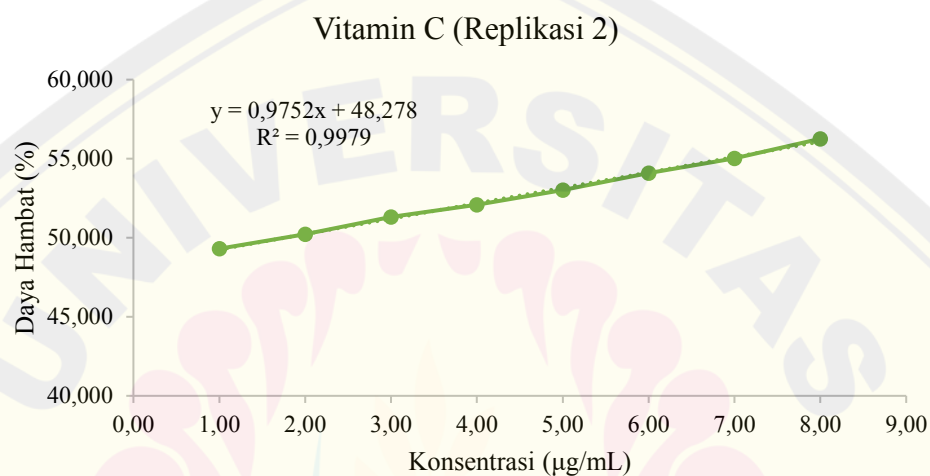
Larutan sampel 5 : diambil 1,25 mL dari induk ad 5 mL = 25 µg/mL

Larutan sampel 6 : diambil 1,50 mL dari induk ad 5 mL = 30 µg/mL

Larutan sampel 7 : diambil 1,75 mL dari induk ad 5 mL = 35 µg/mL

Larutan sampel 8 : diambil 2,00 mL dari induk ad 5 mL = 40 µg/mL

Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi vitamin C	Daya hambat (%)
5,00	1,00	0,647	0,328	49,304
10,00	2,00	0,647	0,322	50,232
15,00	3,00	0,647	0,315	51,314
20,00	4,00	0,647	0,31	52,087
25,00	5,00	0,647	0,304	53,014
30,00	6,00	0,647	0,297	54,096
35,00	7,00	0,647	0,291	55,023
40,00	8,00	0,647	0,283	56,259



Perhitungan IC₅₀

$$y = 0,9752x + 48,278$$

$$50 = 0,9752x + 48,278$$

$$x = 1,766 \mu\text{g/mL}$$

3. Vitamin C Replikasi 3

Pembuatan larutan induk : $(0,0020 \text{ mg}/20 \text{ mL}) \times 1.000 = 100 \mu\text{g/mL}$

Pengenceran

Larutan sampel 1 : diambil 0,25 mL dari induk ad 5 mL = 5 µg/mL

Larutan sampel 2 : diambil 0,50 mL dari induk ad 5 mL = 10 µg/mL

Larutan sampel 3 : diambil 0,75 mL dari induk ad 5 mL = 15 µg/mL

Larutan sampel 4 : diambil 1,00 mL dari induk ad 5 mL = 20 µg/mL

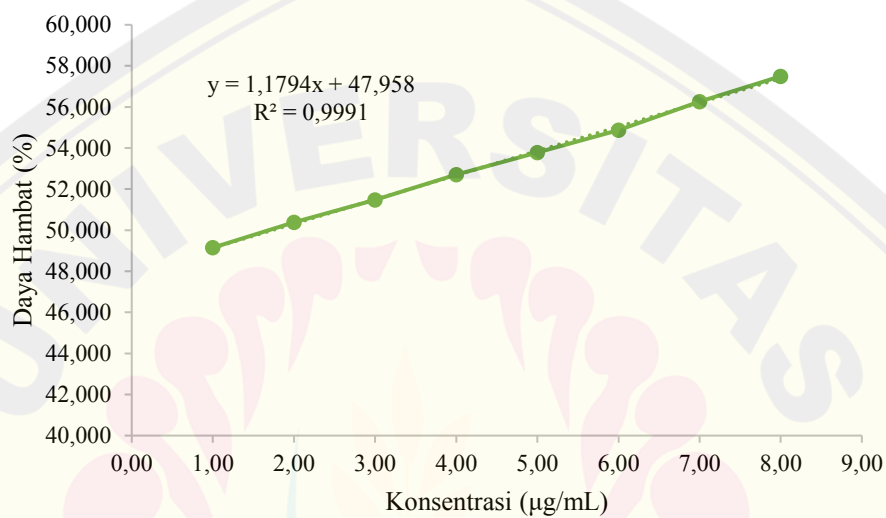
Larutan sampel 5 : diambil 1,25 mL dari induk ad 5 mL = 25 µg/mL

Larutan sampel 6 : diambil 1,50 mL dari induk ad 5 mL = 30 µg/mL

Larutan sampel 7 : diambil 1,75 mL dari induk ad 5 mL = 35 µg/mL

Larutan sampel 8 : diambil 2,00 mL dari induk ad 5 mL = 40 µg/mL

Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi vitamin C	Daya hambat (%)
5,00	1,00	0,647	0,329	49,149
10,00	2,00	0,647	0,321	50,386
15,00	3,00	0,647	0,314	51,468
20,00	4,00	0,647	0,306	52,705
25,00	5,00	0,647	0,299	53,787
30,00	6,00	0,647	0,292	54,869
35,00	7,00	0,647	0,283	56,259
40,00	8,00	0,647	0,275	57,496



Perhitungan IC₅₀

$$y = 1,1794x + 47,958$$

$$50 = 1,1794x + 47,958$$

$$x = 1,731 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{SD} = 0,028 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Rata-rata} = 1,762 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{RSD} = 1,618\%$$

Lampiran 4. 12 Penentuan Persentase Daya Hambat dan IC50 Ekstrak Air Herba Rumput Betung

1. Ekstrak Rumput Betung Replikasi 1

Pembuatan larutan induk : $(0,1003 \text{ mg}/20 \text{ mL}) \times 1.000 = 5.015 \text{ } \mu\text{g}/\text{mL}$

Pengenceran

Larutan sampel 1 : diambil 0,125 mL dari induk ad 5 mL =125,375 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan sampel 2 : diambil 0,250 mL dari induk ad 5 mL =250,750 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan sampel 3 : diambil 0,375 mL dari induk ad 5 mL =376,125 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan sampel 4 : diambil 0,500 mL dari induk ad 5 mL =501,500 $\mu\text{g}/\text{mL}$

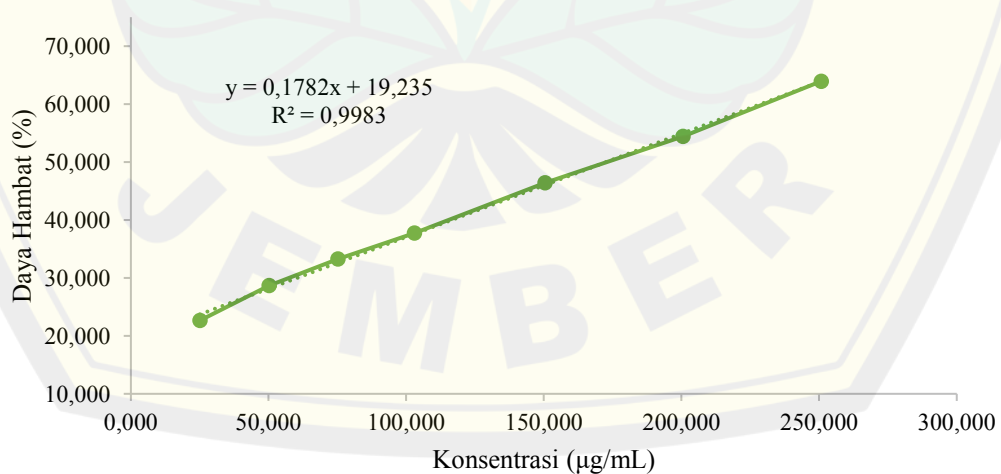
Larutan sampel 5 : diambil 0,750 mL dari induk ad 5 mL =752,250 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan sampel 6 : diambil 1,000 mL dari induk ad 5 mL =1.003,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan sampel 7 : diambil 1,250 mL dari induk ad 5 mL =1.253,750 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Konsentrasi ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Absorbansi DPPH	Absorbansi sampel ekstrak	Daya hambat (%)
125,375	25,075	0,649	0,502	22,650
250,750	50,150	0,649	0,463	28,659
376,125	75,225	0,649	0,433	33,282
501,500	103,000	0,649	0,404	37,750
752,250	150,450	0,649	0,348	46,379
1.003,000	200,600	0,649	0,296	54,391
1.253,750	250,750	0,649	0,234	63,945

Ekstrak Air Herba Rumput Betung (Replikasi 1)



Perhitungan IC₅₀

$$y = 0,1782x + 19,235$$

$$50 = 0,1782x + 19,235$$

$$x = 172,643 \mu\text{g/mL}$$

2. Ekstrak Rumput Betung Replikasi 2

Pembuatan larutan induk : $(0,1001 \text{ mg}/20 \text{ mL}) \times 1.000 = 5.005 \mu\text{g/mL}$

Pengenceran

Larutan sampel 1 : diambil 0,125 mL dari induk ad 5 mL = 125,125 $\mu\text{g/mL}$

Larutan sampel 2 : diambil 0,250 mL dari induk ad 5 mL = 250,250 $\mu\text{g/mL}$

Larutan sampel 3 : diambil 0,375 mL dari induk ad 5 mL = 375,375 $\mu\text{g/mL}$

Larutan sampel 4 : diambil 0,500 mL dari induk ad 5 mL = 500,500 $\mu\text{g/mL}$

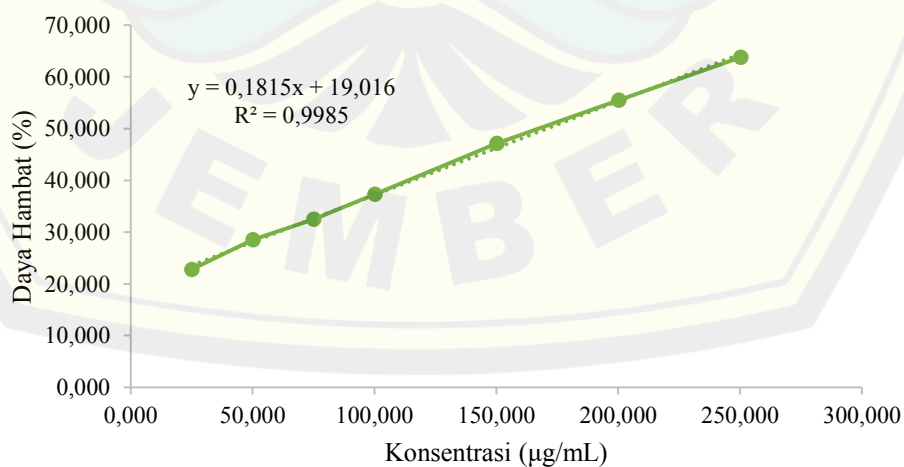
Larutan sampel 5 : diambil 0,750 mL dari induk ad 5 mL = 750,750 $\mu\text{g/mL}$

Larutan sampel 6 : diambil 1,000 mL dari induk ad 5 mL = 1.001,000 $\mu\text{g/mL}$

Larutan sampel 7 : diambil 1,250 mL dari induk ad 5 mL = 1.251,250 $\mu\text{g/mL}$

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi DPPH	Absorbansi sampel ekstrak	Daya hambat (%)
125,125	25,025	0,649	0,501	22,804
250,250	50,050	0,649	0,464	28,505
375,375	75,075	0,649	0,438	32,512
500,500	100,100	0,649	0,407	37,288
750,750	150,150	0,649	0,343	47,149
1.001,000	200,200	0,649	0,289	55,469
1.251,250	250,250	0,649	0,235	63,790

Ekstrak Air Herba Rumput Betung (Replikasi 2)



Perhitungan IC₅₀

$$y = 0,1815x + 19,016$$

$$50 = 0,1815x + 19,016$$

$$x = 170,711 \mu\text{g/mL}$$

3. Ekstrak Rumput Betung Replikasi 3

Pembuatan larutan induk : $(0,1001 \text{ mg}/20 \text{ mL}) \times 1.000 = 5.005 \mu\text{g/mL}$

Pengenceran

Larutan sampel 1 : diambil 0,125 mL dari induk ad 5 mL = 125,125 $\mu\text{g/mL}$

Larutan sampel 2 : diambil 0,250 mL dari induk ad 5 mL = 250,250 $\mu\text{g/mL}$

Larutan sampel 3 : diambil 0,375 mL dari induk ad 5 mL = 375,375 $\mu\text{g/mL}$

Larutan sampel 4 : diambil 0,500 mL dari induk ad 5 mL = 500,500 $\mu\text{g/mL}$

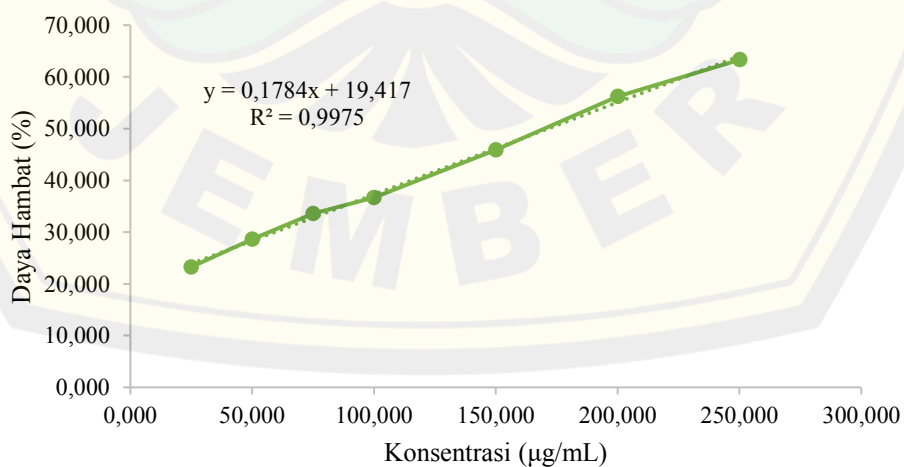
Larutan sampel 5 : diambil 0,750 mL dari induk ad 5 mL = 750,750 $\mu\text{g/mL}$

Larutan sampel 6 : diambil 1,000 mL dari induk ad 5 mL = 1.001,000 $\mu\text{g/mL}$

Larutan sampel 7 : diambil 1,250 mL dari induk ad 5 mL = 1.251,250 $\mu\text{g/mL}$

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi DPPH	Absorbansi sampel ekstrak	Daya hambat (%)
125,125	25,025	0,649	0,498	23,266
250,250	50,050	0,649	0,463	28,659
375,375	75,075	0,649	0,431	33,590
500,500	100,100	0,649	0,411	36,672
750,750	150,150	0,649	0,351	45,917
1.001,000	200,200	0,649	0,284	56,240
1.251,250	250,250	0,649	0,238	63,328

Ekstrak Air Herba Rumput Betung (Replikasi 3)



Perhitungan IC ₅₀	
y	= 0,1784x + 19,417
50	= 0,1784x + 19,417
x	= 171,429 µg/mL
SD	= 0,977 µg/mL
Rata-rata	= 171,594 µg/mL
RSD	= 0,569%

Lampiran 4. 13 Penentuan Persentase Daya Hambat dan IC₅₀ AgNPs Ekstrak Air Herba Rumpun Betung

1. AgNPs Replikasi 1

Pembuatan larutan induk : $(0,1003 \text{ mg}/20 \text{ mL}) \times 1.000 = 5.015 \text{ µg/mL}$

Pengenceran

Larutan sampel 1 : diambil 0,125 mL dari induk ad 5 mL = 125,375 µg/mL

Larutan sampel 2 : diambil 0,250 mL dari induk ad 5 mL = 250,750 µg/mL

Larutan sampel 3 : diambil 0,375 mL dari induk ad 5 mL = 376,125 µg/mL

Larutan sampel 4 : diambil 0,500 mL dari induk ad 5 mL = 501,500 µg/mL

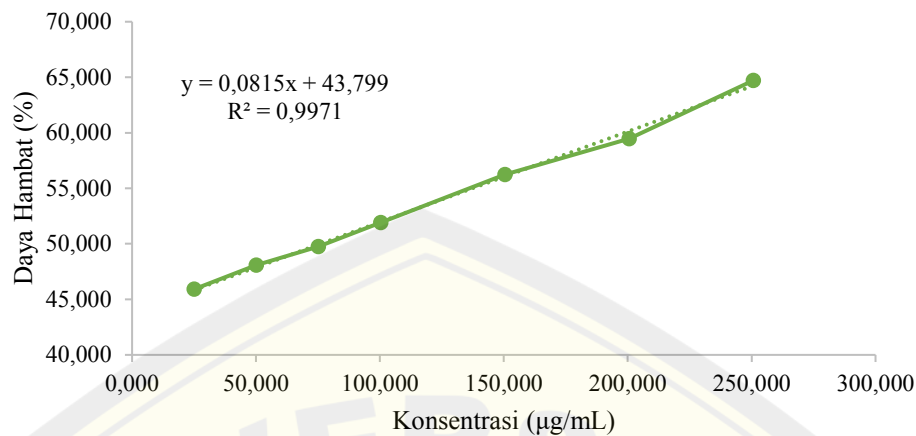
Larutan sampel 5 : diambil 0,750 mL dari induk ad 5 mL = 752,250 µg/mL

Larutan sampel 6 : diambil 1,000 mL dari induk ad 5 mL = 1.003,000 µg/mL

Larutan sampel 7 : diambil 1,250 mL dari induk ad 5 mL = 1.253,750 µg/mL

Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi sampel AgNPs	Daya hambat (%)
125,375	25,075	0,649	0,351	45,917
250,750	50,150	0,649	0,337	48,074
376,125	75,225	0,649	0,326	49,769
501,500	100,300	0,649	0,312	51,926
752,250	150,450	0,649	0,284	56,240
1.003,000	200,600	0,649	0,263	59,476
1.253,750	250,750	0,649	0,229	64,715

AgNPs Ekstrak Air Herba Rumput Betung (Replikasi 1)

**Perhitungan IC₅₀**

$$y = 0,0815x + 43,799$$

$$50 = 0,0815x + 43,799$$

$$x = 76,085 \mu\text{g/mL}$$

2. AgNPs Replikasi 2

Pembuatan larutan induk : $(0,1001 \text{ mg}/20 \text{ mL}) \times 1.000 = 5.015 \mu\text{g/mL}$

Pengenceran

Larutan sampel 1 : diambil 0,125 mL dari induk ad 5 mL = 125,125 $\mu\text{g/mL}$

Larutan sampel 2 : diambil 0,250 mL dari induk ad 5 mL = 250,250 $\mu\text{g/mL}$

Larutan sampel 3 : diambil 0,375 mL dari induk ad 5 mL = 375,375 $\mu\text{g/mL}$

Larutan sampel 4 : diambil 0,500 mL dari induk ad 5 mL = 500,500 $\mu\text{g/mL}$

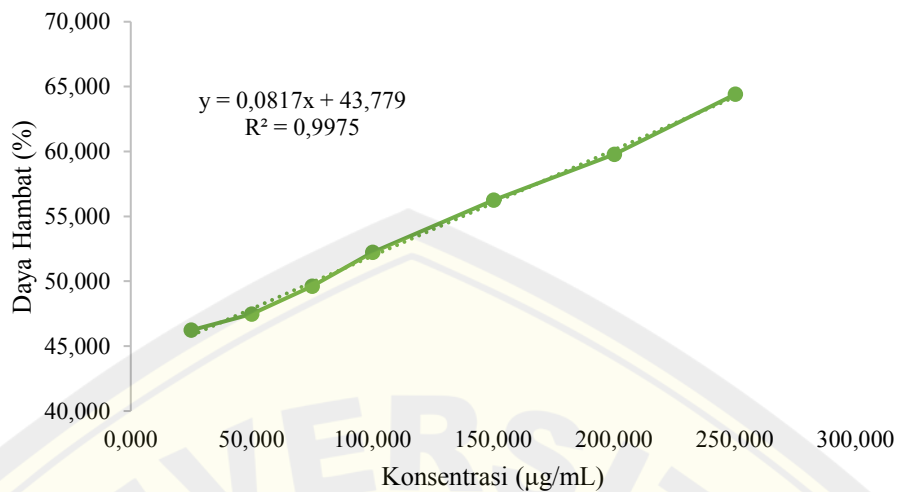
Larutan sampel 5 : diambil 0,750 mL dari induk ad 5 mL = 750,750 $\mu\text{g/mL}$

Larutan sampel 6 : diambil 1,000 mL dari induk ad 5 mL = 1.001,000 $\mu\text{g/mL}$

Larutan sampel 7 : diambil 1,250 mL dari induk ad 5 mL = 1.251,250 $\mu\text{g/mL}$

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi dalam kuvet ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi DPPH	Absorbansi sampel AgNPs	Daya hambat (%)
125,125	25,025	0,649	0,349	46,22496148
250,250	50,050	0,649	0,341	47,45762712
375,375	75,075	0,649	0,327	49,61479199
500,500	100,100	0,649	0,31	52,23420647
750,750	150,150	0,649	0,284	56,2403698
1.001,000	200,200	0,649	0,261	59,78428351
1.251,250	250,250	0,649	0,231	64,40677966

AgNPs Ekstrak Air Herba Rumput Betung (Replikasi 2)

**Perhitungan IC₅₀**

$$y = 0,0817x + 43,779$$

$$50 = 0,0817x + 43,779$$

$$x = 76,144 \mu\text{g/mL}$$

3. AgNPs Replikasi 3

Pembuatan larutan induk : $(0,1002 \text{ mg}/20 \text{ mL}) \times 1.000 = 5.015 \mu\text{g/mL}$

Pengenceran

Larutan sampel 1 : diambil 0,125 mL dari induk ad 5 mL = 125,375 $\mu\text{g/mL}$

Larutan sampel 2 : diambil 0,250 mL dari induk ad 5 mL = 250,750 $\mu\text{g/mL}$

Larutan sampel 3 : diambil 0,375 mL dari induk ad 5 mL = 376,125 $\mu\text{g/mL}$

Larutan sampel 4 : diambil 0,500 mL dari induk ad 5 mL = 501,500 $\mu\text{g/mL}$

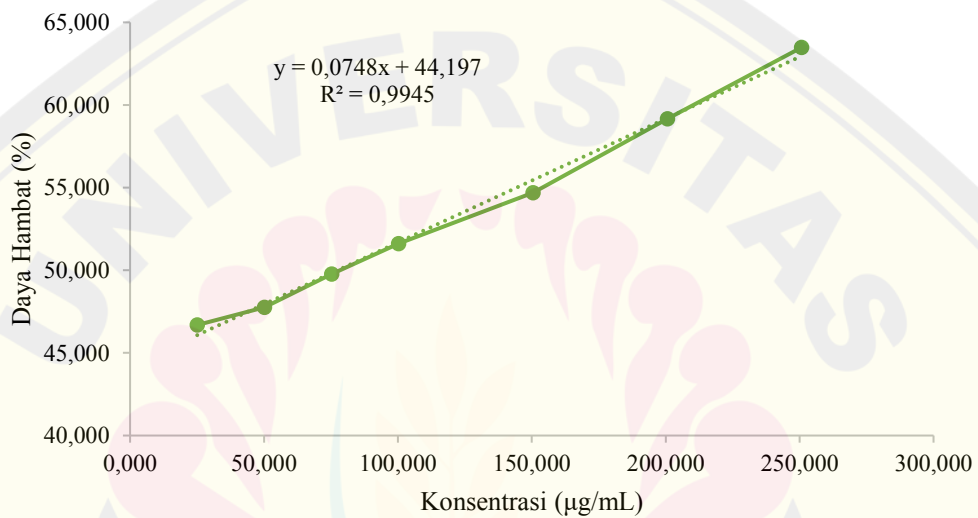
Larutan sampel 5 : diambil 0,750 mL dari induk ad 5 mL = 752,250 $\mu\text{g/mL}$

Larutan sampel 6 : diambil 1,000 mL dari induk ad 5 mL = 1.003,000 $\mu\text{g/mL}$

Larutan sampel 7 : diambil 1,250 mL dari induk ad 5 mL = 1.253,750 $\mu\text{g/mL}$

Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi dalam kuvet (µg/mL)	Absorbansi DPPH	Absorbansi sampel AgNPs	Daya hambat (%)
125,375	25,075	0,649	0,346	46,687
250,750	50,150	0,649	0,339	47,766
376,125	75,225	0,649	0,326	49,769
501,500	100,300	0,649	0,314	51,618
752,250	150,450	0,649	0,294	54,699
1.003,000	200,600	0,649	0,265	59,168
1.253,750	250,750	0,649	0,237	63,482

AgNPs Ekstrak Air Herba Rumpun Betung (Replikasi 3)



Perhitungan IC ₅₀	
y	= 0,0748x + 44,197
50	= 0,0748x + 44,197
x	= 77,580 µg/mL
SD	= 0,846 µg/mL
Rata-rata	= 76,604 µg/mL
RSD	= 1,105%

Lampiran 4. 14 Analisis Data Kadar Fenolik Total Ekstrak Air Herba Rumput Betung

1. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
mg GAE/100 mL	Based on Mean	2.926	2	6	.130
	Based on Median	1.092	2	6	.394
	Based on Median and with adjusted df	1.092	2	3.072	.438
	Based on trimmed mean	2.766	2	6	.141

2. Uji Normalitas

Tests of Normality							
Ekstrak Air Herba R.Betung		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
mg	5%	.211	3	.	.991	3	.815
GAE/100	10%	.253	3	.	.964	3	.637
mL	15%	.256	3	.	.962	3	.624

a. Lilliefors Significance Correction

3. Uji *One-way* ANOVA

ANOVA						
mg GAE/100 mL						
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
Between Groups	6022.275	2	3011.138	2145.610	.000	
Within Groups	8.420	6	1.403			
Total	6030.696	8				

4. Uji Post hoc LSD (*Least Significant Difference*)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: mg GAE/100 mL

LSD

(I) Ekstrak Air Herba R.Betung	(J) Ekstrak Air Herba R.Betung	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
5%	10%	-35.957000*	.967262	.000	-39.54306	-32.37094
	15%	-63.161000*	.967262	.000	-66.74706	-59.57494
10%	5%	35.957000*	.967262	.000	32.37094	39.54306
	15%	-27.204000*	.967262	.000	-30.79006	-23.61794
15%	5%	63.161000*	.967262	.000	59.57494	66.74706
	10%	27.204000*	.967262	.000	23.61794	30.79006

*. The mean difference is significant at the 0,01 level.

Lampiran 4. 15 Analisis Data Penentuan IC₅₀ Antioksidan

1. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
IC ₅₀	Based on Mean	4.288	2	6	.070
	Based on Median	.932	2	6	.444
	Based on Median and with adjusted df	.932	2	3.714	.470
	Based on trimmed mean	3.907	2	6	.082

2. Uji Normalitas

Tests of Normality

Larutan Uji		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC ₅₀	Vitamin C	.227	3	.	.983	3	.750
	Ekstrak Air Herba	.234	3	.	.979	3	.719
	R.Betung						
	AgNPs	.373	3	.	.780	3	.067

a. Lilliefors Significance Correction

3. Uji *One-way* ANOVA

ANOVA					
IC ₅₀					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	43467.713	2	21733.857	39013.639	.000
Within Groups	3.343	6	.557		
Total	43471.056	8			

4. Uji *Post hoc* LSD (*Least Significant Difference*)**Multiple Comparisons**Dependent Variable: IC₅₀

LSD

(I) Larutan Uji	(J) Larutan Uji	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Vitamin C	Ekstrak Air	-169.832667*	.609417	.000	-172.09204	-167.57330
	Herba R.Betung					
	AgNPs	-74.841333*	.609417	.000	-77.10070	-72.58196
Ekstrak Air	Vitamin C	169.832667*	.609417	.000	167.57330	172.09204
Herba R.Betung	AgNPs	94.991333*	.609417	.000	92.73196	97.25070
AgNPs	Vitamin C	74.841333*	.609417	.000	72.58196	77.10070
	Ekstrak Air	-94.991333*	.609417	.000	-97.25070	-92.73196
	Herba R.Betung					

*. The mean difference is significant at the 0,01 level.