

OPTIMASI BIOSINTESIS NANOPARTIKEL PERAK MENGGUNAKAN EKSTRAK DAUN MANGROVE (*Rhizophora apiculata Blume*) UNTUK MENDETEKSI HISTAMIN DENGAN METODE KOLORIMETRI

OPTIMIZATION OF SILVER NANOPARTICLES BIOSYNTHESIS USING (*Rhizophora apiculata Blume*) MANGROVE LEAVE EXTRACT FOR HISTAMIN DETECTION USING COLORIMETRY METHODE

Moh. Syaiful Arif, Silsa Meki Noon *

Department of Chemistry, Faculty Mathematics and Natural Science, Mulawarman University,
Jl. Barong Tongkok No 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda-Indonesia

*Corresponding author: silsamn02@gmail.com

ABSTRACT

Biosynthesis of silver nanoparticle was made by using the colorimetry method with mangrove leaf extract (*Rhizophora apiculata Blume*). The extract used to minimize used of chemicals harmful to the environment, using mangrove leaf extract (*Rhizophora apiculata Blume*) as reducing agent for the AgNO_3 precursor. The formation of silver nanoparticles was carried out by adding the leaf extract into the solution of AgNO_3 and homogenized using a magnetic stirrer. The formation of silver nanoparticle was monitored by observing UV-Vis absorption. The Result showed that the absorbance value increased with increasing reaction concentration of AgNO_3 1mM, with the resulting pH 6 and volume of leaf extract 6 mL.

Keywords: Silver nanoparticles, Biosynthesis, Optimization, Mangrove, Colorimetric Method.

ABSTRAK

Biosintesis nanopartikel perak dilakukan dengan metode kolorimetri dengan ekstrak daun mangrove (*Rhizophora apiculata Blume*). Ekstrak digunakan untuk meminimalkan penggunaan bahan kimia berbahaya bagi lingkungan, dengan menggunakan ekstrak daun mangrove (*Rhizophora apiculata Blume*) sebagai reduktor prekursor AgNO_3 . Pembentukan nanopartikel perak dilakukan dengan menambahkan ekstrak daun ke dalam larutan AgNO_3 dan dihomogenkan menggunakan magnetic stirrer. Pembentukan nanopartikel perak dipantau dengan mengamati serapan UV-Vis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai absorbansi meningkat dengan meningkatnya konsentrasi reaksi AgNO_3 1mM, dengan hasil pH 6 dan volume ekstrak daun 6 mL.

Kata Kunci: Nanopartikel Perak, Biosintesis, Optimasi, Mangrove, Metode Kolorimetri.

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara yang mempunyai ekosistem hutan mangrove terluas didunia dengan luas sekitar 3,8 juta hektar, diikuti Brazil, Australia, Nigeria, dan Mexico. Indonesia memiliki sekitar 40% dari total hutan mangrove di dunia, dan dari jumlah itu sekitar 75% berada di Papua [1].

Tumbuhan mangrove (*Rhizophora apiculata Blume*) sejak lama sudah diketahui mempunyai khasiat sebagai obat-obatan tradisional untuk mengobati beberapa penyakit. Penggunaan daun, buah, batang, dan akar dari

mangrove telah diketahui mempunyai aktivitas antibakteri yang cukup luas [2].

Tumbuhan mangrove (*Rhizophora apiculata Blume*) memiliki kandungan senyawa aktif diantaranya saponin, flavonoid, dan tanin. Senyawa aktif ini memiliki kemampuan sebagai anti bakteri [2].

Tanaman mangrove (*Rhizophora apiculata Blume*) kaya akan senyawa polifenol seperti flavonoid, fenol dan tannin. Juga mengandung senyawa kimia lainnya seperti andrographolide, panikulida, farnesol, protein arabinogalaktan, dan saponin [3] Senyawa polifenol adalah salah satu senyawa kimia yang diduga dapat berperan

sebagai *agent* pereduksi [3,4]. Oleh sebab itu tanaman mangrove (*Rhizophora apiculata Blume*) dapat digunakan untuk mensintesis nanopartikel khususnya nanopartikel perak

Saat ini telah banyak dikembangkan sintesis nanopartikel menggunakan metode biologi, yang lebih dikenal dengan metode biosintesis. Biosintesis adalah cara sintesis nanopartikel dengan menggunakan media dari bahan-bahan biologi baik mikroorganisme ataupun ekstrak dari tumbuh-tumbuhan. Penggunaan bahan ramah lingkungan tersebut memberikan manfaat terhadap keamanan lingkungan serta cocok untuk aplikasi biomedis dan farmasi, karena dalam proses sintesisnya tidak menggunakan bahan kimia beracun [3-6].

Nanopartikel (AgNPs) merupakan suatu partikel yang berukuran nano yaitu sekitar 1-100 nm. Material yang mempunyai struktur nanopartikel pada umumnya mempunyai sifat yang berbeda dengan struktur aslinya. Sejumlah sifat tersebut dapat diubah-ubah melalui pengontrolan ukuran material, pengaturan komposisi kimiawi, modifikasi permukaan, dan pengontrolan interaksi antar partikel [7,8]. Secara garis besar, pembentukan nanopartikel logam dapat dilakukan dengan metode top down (fisika) dan bottom up (kimia). Metode fisika (top down) yaitu dengan cara memecah padatan logam menjadi partikel-partikel kecil berukuran nano. Sedangkan metode kimia (bottom up) dilakukan dengan cara melarutkan garam logam, agen pereduksi, dan penstabil hingga terbentuk nanopartikel logam [8].

Histamin merupakan golongan amin biogenik yang disintesis dari asam amino histidin. Histamin ini dihasilkan oleh sel mast, platelets, basophil, sel enterokromafin dan neuron histaminergik dimana histamin disimpan di dalam vesikel intraseluler dan dilepaskan pada saat terdapat rangsangan. Histamin adalah mediator yang paten terjadinya reaksi biologis. Histamin bekerja dengan cara berikatan dengan reseptornya. Senyawa amin biogenik adalah terbentuk karena dekarboksilasi endogenik dilakukan oleh enzim yang terdapat dalam sel ikan itu sendiri, maupun eksogenik yaitu proses dekarboksilasi oleh mikroorganisme yang menghasilkan enzim dekarboksilase ekstraseluler [9].

Perlu dilakukan analisis histamin ini karena adanya racun yang disebabkan oleh histamin disebut *histamin fish poisoning* (HFP) terjadi setelah mengkonsumsi ikan atau produk perikanan mengandung histidin bebas. Histidin

bebas merupakan prekursor histamin penyebab terjadi keracunan pada manusia jika dikonsumsi. Setelah ikan mati, enzim dari bakteri yang tumbuh di dalamnya dapat dengan segera mengkatalisis reaksi yang menghasilkan amina biogenik, termasuk histamin, yang bersifat toksin. Ikan yang masih segar memiliki kandungan histamin lebih kecil dari 10 ppm. Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) Nomor 2729 Tahun 2013 bahwa syarat mutu dan keamanan produk ikan segar dengan kadar histamin maksimum 100 mg/kg atau setara dengan kadar sebesar 100 ppm.

Pengembangan metode kolorimetri berdasarkan AgNPs sangat menarik karena fungsinya yang sangat mudah dan mempunyai sifat optik dan elektroniknya yang unik [10] Reaksi antara AgNPs-Histamin yaitu terjadinya perubahan warna kuning cerah menjadi kecoklatan. Perubahan warna tersebut dikarenakan terjadinya agregasi (proses pengelompokan partikel) pada AgNPs ketika direaksikan dengan histamin.

Dalam penelitian ini, dilakukan biosintesis nanopartikel perak menggunakan ekstrak daun mangrove (*Rhizophora apiculata Blume*) mengandung flavonoid berupa polifenol yang secara teoritis memiliki sifat pereduksi dan capping dalam sintesis nanopartikel. Bioreduksi nanopartikel logam dengan kombinasi biomolekul yang ditemukan dalam ekstrak tumbuhan (misalnya enzim, protein, asam amino, vitamin, polisakarida, dan asam organik) bersifat ramah lingkungan, namun kompleks secara kimia [11]. Disamping itu, sejauh ini belum ada laporan penelitian yang menggunakan ekstrak tersebut sebagai bahan pereduksi logam terutama logam transisi seperti perak. Sumber perak digunakan dalam penelitian ini adalah perak nitrat.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain neraca analitik, spatula, tabung reaksi, gelas arloji, pipet mikro, erlenmeyer (*pyrex*), *beaker glass* (*pyrex*), labu takar (*pyrex*), pemanas stirer, botol semprot, Spektrofotometer UV-Vis tipe Evolusion 201.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sampel ekstrak daun Mangrove, aquades, larutan AgNO₃, aquademin, NaCl 0.9%, HCl 0.1 M, NaOH 0.1 M, *aluminium foil*, larutan

Histamin dan plastik Wrap (*cling wrap*), kertas saring whatman.

Prosedur Penelitian

Preparasi Sampel

Daun mangrove (*Rhizophora apiculata Blume*) dibersihkan dari kotoran menggunakan air yang mengalir kemudian dipotong berukuran kecil. Selanjutnya dikering-anginkan dengan suhu ruang (tidak terkena sinar matahari secara langsung) hingga kering.

Ekstraksi

Ditimbang 2 gram daun mangrove yang sudah dicuci bersih dan dikeringkan dipotong halus (dihaluskan). Kemudian, dimasukkan kedalam gelas kimia yang berisi 100 ml aquademin direbus selama 30 menit pada suhu 70°C. Kemudian didinginkan hinggamencaapai suhu ruang dan disaring dengan kertas Whatman untuk menghilangkan materi partikulat. Terakhir ekstrak disentrifugasi pada 20.000 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan ekstrak kuning kecoklatan yang jernih. Hasil ekstrak disimpan pada suhu 4°C. Ekstrak ini dapat digunakan untuk proses biosintesis selanjutnya.

Optimasi Biosintesis

Penentuan Variasi Konsentrasi AgNO₃

Sebanyak 50 mL AgNO₃ dengan berbagai konsentrasi 0.5 mM; 1 mM; 1.5 mM; 2 mM; 2.5mM dimasukan masing-masing ke dalam Erlenmeyer lalu ditambahkan 5 mL setetes demi setetes ekstrak daun Mangrove kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* sambil dipanaskan hingga terjadi perubahan warna menjadi kuning cerah. Larutan tersebut didinginkan pada suhu ruang. Selanjutnya masing-masing larutan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Penentuan volume ekstrak daun Mangrove

Sebanyak 50 mL AgNO₃ dengan konsentrasi optimum yang diperoleh dimasukkan ke dalam Erlenmeyer lalu dipanaskan pada suhu 70°C selanjutnya ditambahkan sesuai perlakuan 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9 dan 10 mL ekstrak daun Mangrove setetes demi setetes kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* sambil dipanaskan hingga terjadi perubahan warna menjadi merah kecoklatan. Larutan tersebut didinginkan pada suhu ruang. Selanjutnya masing-masing larutan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Penentuan pH Optimum

Sebanyak 50 mL AgNO₃ dengan konsentrasi optimum yang diperoleh dimasukkan ke dalam Erlenmeyer lalu dipanaskan pada suhu 70°C selanjutnya ditambahkan ekstrak daun Mangrove setetes demi setetes sesuai hasil optimasi yang didapatkan. Kemudian di kontrol pH nya menjadi 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10 dengan menambahkan HCl 0,1 M dan NaOH 0,1 M setetes demi setetes. Kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* sambil dipanaskan hingga terjadi perubahan warna menjadi merah kecoklatan. Larutan didinginkan pada suhu ruang. Selanjutnya masing-masing larutan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada proses biosintesis nanopartikel perak dilakukan dengan memanfaatkan bahan alam seperti ekstrak daun mangrove (*Rhizophora apiculata Blume*) sebagai zat pereduksi Ag⁺ menjadi Ag⁰. Metode biosintesis ini bertujuan agar proses pembentukan nanopartikel lebih ramah lingkungan dan tidak membutuhkan banyak bahan kimia [12]. Proses reduksi Ag⁺ menjadi Ag⁰ karena adanya senyawa yang bersifat bioreduktor. Menurut Keshawani *et al.* Dan Shankar *et al.* [13,14] senyawa metabolit sekunder seperti fenolik, terpenid, flavonoid dan biomolekul yang memiliki gugus fungsi aldehyd, asam karboksilat dan amida merupakan senyawa yang berperan dalam mengkonversi Ag⁺ menjadi Ag⁰.

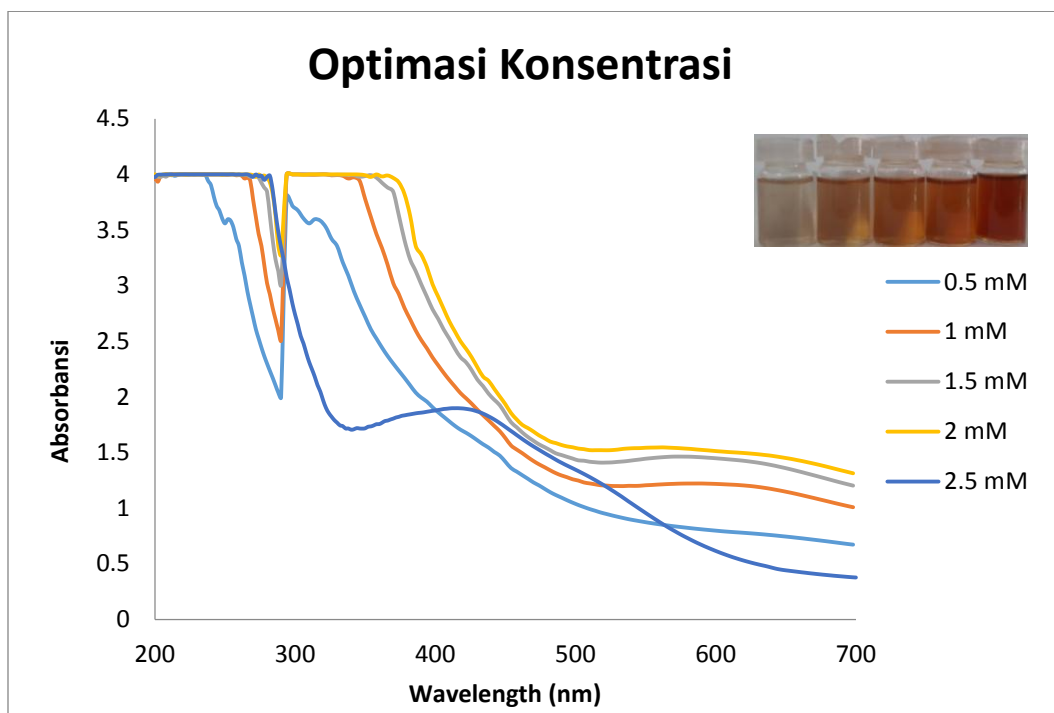
Penentuan Variasi Konsentrasi

Dalam penelitian ini dilakukan optimasi penentuan variasi konsentrasi AgNO₃ yang berbeda-beda. Hal ini dilakukan untuk mengetahui konsentrasi optimum yang dibutuhkan untuk terbentuknya AgNPs.

Pada Gambar 1 menunjukkan hasil panjang gelombang maksimum dan absorbansi dari variasi konsentrasi AgNO₃ yang dilakukan dengan penambahan ekstrak daun mangrove setetes demi tetes hingga terjadi perubahan warna menjadi kuning cerah. Hasil pengukuran AgNPs dengan variasi konsentrasi AgNO₃ menunjukkan panjang gelombang maksimum yang berbeda-beda. Dengan menggunakan konsentrai AgNO₃ 0.5 mM pada sintesis AgNPs menunjukkan tidak ada perubahan warna yang signifikan dengan absorbansi sebesar 4.000 dan pnjang gelombang 222 nm. Menurut Solomon *et al* [15] AgNPs dengan panjang gelombang

maksimum 420 nm memiliki kisaran ukuran partikel 35-40 nm sedangkan panjang gelombang maksimum 438 nm memiliki ukuran partikel 60-80 nm. Pada konsentrasi AgNO_3 1 mM ketika disintesis menjadi AgNPs mengalami perubahan warna kuning dengan panjang gelombang maksimum 410 nm dan absorbansi yaitu 2.1520 nm sedangkan pada konsentrasi AgNO_3 1,5 mM ketika disintesis menjadi AgNPs mengalami perubahan warna kuning kemerahan dengan panjang gelombang maksimum 294 nm dan mengalami kenaikan absorbansi yaitu 4.000, pada konsentrasi 2 mM didapatkan panjang gelombang maksimum sebesar 322 nm dengan absorbansi

4.000 dengan perubahan warna yang cenderung lebih pekat kuning kecoklatan. Lalu pada konsentrasi 2.5 mM didapatkan absorbansi sebesar 1.8986 dengan panjang gelombang maksimum sebesar 416 nm dengan perubahan warna menjadi merah kecoklatan. Hal ini diduga kuat dengan penelitian yang telah dilakukan Badi'ah *et al.*, [16] menyatakan pada konsentrasi AgNO_3 1 mM memiliki ukuran partikel yang lebih kecil dibandingkan dengan konsentrasi AgNO_3 1,5 mM dan konsentrasi yang lainnya. Sehingga pada penentuan konsentrasi AgNO_3 dalam penelitian ini dipilih konsentrasi AgNO_3 1 mM sebagai konsentrasi optimum.



Gambar 1. Spektra Penentuan Konsentrasi AgNO_3

Pentuan Variasi Volume ekstrak daun mangrove (*Rhizophora apiculata* Blume)

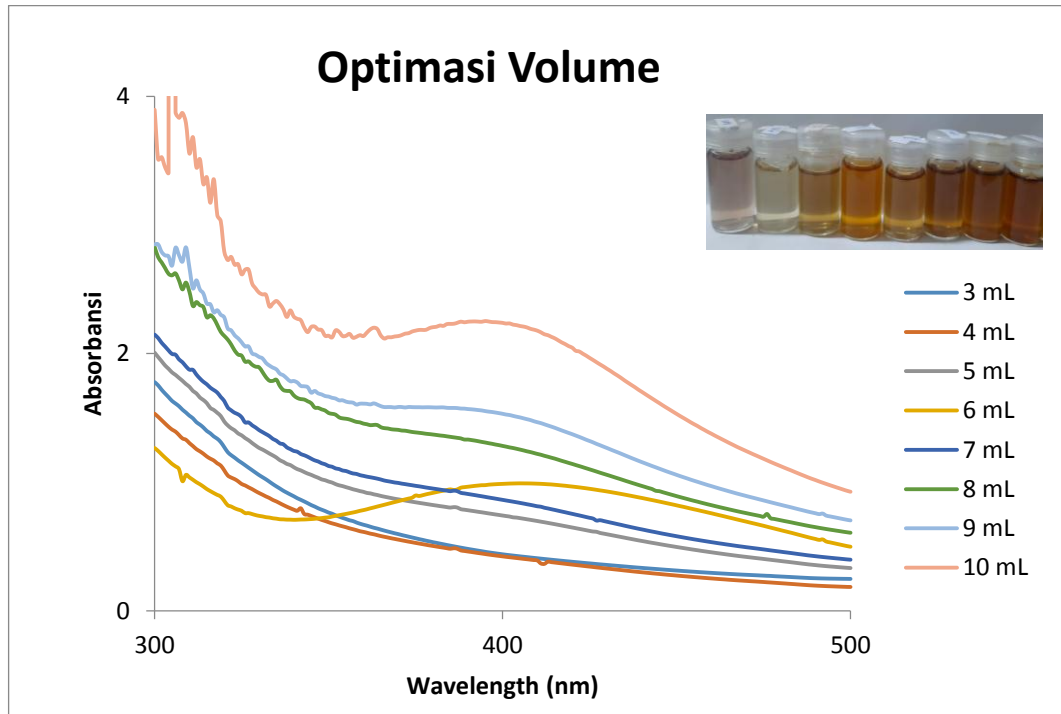
Penentuan volume ekstrak daun mangrove bertujuan untuk pertumbuhan dan pembentukan AgNPs dan mencari volume ekstrak yang optimum. Proses terbentuknya AgNPs, apabila tidak dikendalikan volume ekstrak maka dapat membuat pertumbuhan agregat yang akan terus berkembang dan tidak terkendali. Sehingga endapan dapat menggumpal. Untuk mengetahui pertumbuhan AgNPs dilakukan dengan pengukuran uji kestabilan dengan spektrofotometer UV-Vis. Hasil pengukuran variasi volume ditunjukkan pada gambar 2.

Berdasarkan Gambar 2 hasil pengukuran pada volume 3 dan 4 mL ekstrak daun mangrove menghasilkan panjang gelombang 300 nm dan 302

dengan absorbansi sebesar 1.777 dan 1.4821 menunjukkan belum terjadi perubahan warna. Pada Volume 5 mL dengan panjang gelombang 351 nm dengan absorbansi sebesar 0.9969 mengalami perubahan warna kuning cerah sehingga diduga AgNPs mulai terbentuk. Lalu di volume 6 mL dengan panjang gelombang 405 nm dengan absorbansi sebesar 0.9907 dengan perubahan warna menjadi kuning kecoklatan sedangkan pada volume 7 mL, 8 mL dan 9 mL mengalami penurunan panjang gelombang dengan panjang gelombang 369 nm, 372 nm, dan 365 nm dengan absorbansi 0.9974, 1.3999 dan 1.5911 sedangkan pada volume 10 mL dengan panjang gelombang 395 nm dengan absorbansi 2.2527 dapat disimpulkan bahwa semakin banyak dalam penambahan volume ekstrak maka dapat

menurunkan absorbansi dan panjang gelombang dan pembentukan nanopartikel menjadi tidak sempurna. Sehingga pada penambahan volume ekstrak 6 mL pada sintesis AgNPs sudah mencapai volume optimum sesuai berdasarkan

penelitian Solomon *et al.*,(2007) yaitu kisaran 395-405 nm dengan ukuran partikel 10-14 nm jadi semakin tinggi nilai panjang gelombang maksimum maka semakin besar ukuran nanopartikel yang terbentuk.

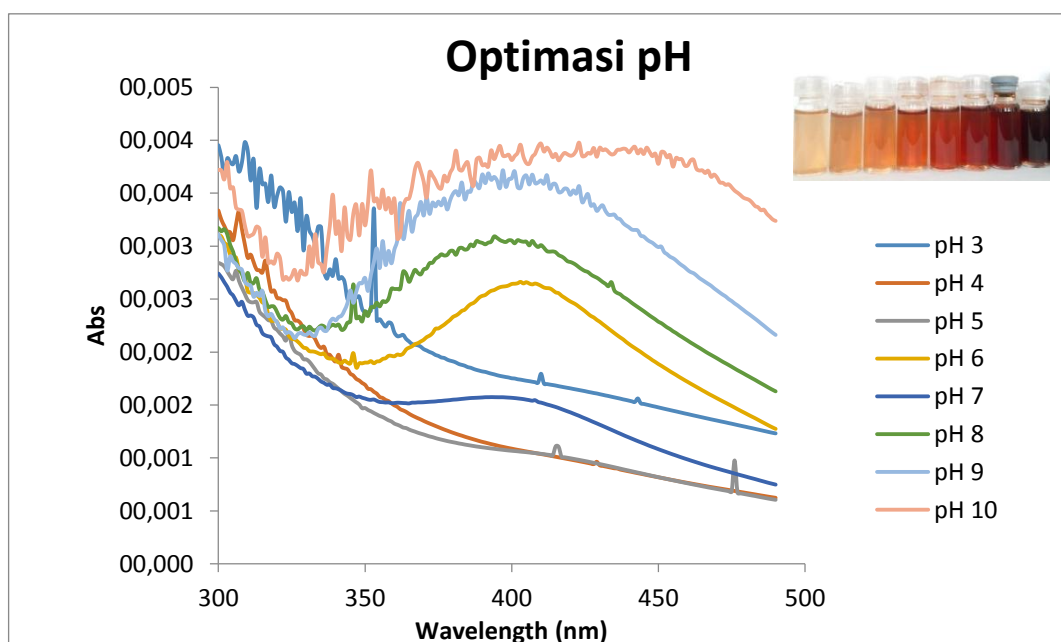


Gambar 2. Spektra penentuan volume ekstrak daun mangrove

Penentuan variasi pH Optimum

Penentuan variasi pH optimum bertujuan untuk melihat kestabilan AgNPs dalam pH tertentu dengan menambahkan tetes demi tetes larutan HCl 0.1 M dan NaOH 0.1 M sebagai

larutan penstabil pH agar tidak terbentuknya endapan. Pada gambar 3 menunjukkan hasil grafik penentuan variasi pH optimum dengan kondisi pH yang berbeda-beda.



Gambar 3. Spektra Penentuan pH optimum

Pada gambar 3 menunjukkan hasil bahwa ketika AgNPs dengan rentang pH yang berbeda-beda memiliki perubahan warna yang berbeda. Dalam penelitian Singh [17] campuran yang bereaksi akan berubah menjadi coklat keruh menunjukkan bahwa reduksi ion Ag^+ yang terjadi, namun untuk mencapai larutan nanopartikel yang stabil perlu mengoptimalkan sintesis dengan menggunakan pH yang berbeda-beda. Hasil menunjukkan bahwa saat direaksikan dengan pH asam tetap tidak terjadi perubahan warna yang signifikan, namun larutan bereaksi berubah kuning muda saat direaksikan dengan sedikit pH basa. Dapat dilihat pada pH 3, pH 4 dan pH 5 memiliki warna yang cenderung pudar dibandingkan pada pH 6 yang memiliki intensitas warna yang baik dan dapat dilihat dari hasil pengukuran pada panjang gelombang maksimum sebesar 403 nm dengan absorbansi 2.6628 sedangkan pada pH 8, pH 9 dan pH 10 mengalami penurunan absorbansi. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pH optimum berada di pH 6 dikarenakan dengan meningkatkan pH reaksi warna coklat kehitaman yang menyebabkan pengendapan logam perak. Sehingga perubahan warna campuran reaksi mungkin disebabkan oleh adanya pembentukan endapan nanopartikel perak [17]. Pembentukan nanopartikel dapat dengan mudah diketahui dengan menggunakan spektroskopi UV-Vis melalui analisis sensitif nanopartikel menunjukkan karakteristik Pita *Surface Plasmon Resonance (SPR)*. Hasil menunjukkan pita SPR pada pH 6 dengan panjang gelombang maksimum 403 nm menunjukkan adanya AgNPs sesuai dengan penelitian Solomon *et al.*, (2007) yaitu kisaran 395-405 nm dengan ukuran partikel 10-14 nm jadi semakin tinggi nilai panjang gelombang maksimum maka semakin besar ukuran nanopartikel yang terbentuk.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa hasil optimasi penentuan konsentrasi $AgNO_3$ yaitu pada konsentrasi 1mM dengan panjang gelombang maksimum sebesar 416 nm dan absorbansi sebesar 1.8986. Hasil optimasi penentuan volume ekstrak daun mangrove yaitu sebesar 6 mL dengan panjang gelombang sebesar 405 nm dan absorbansi sebesar 0.9907. Hasil optimasi penentuan pH optimum yaitu pada pH 6 dengan panjang gelombang sebesar 403 nm dan absorbansi sebesar 2.6628.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Pyrrho. (2010). *Selamatkan Mangrove*. www.Wikipedia. Go.id
- [2] Ananda K and Sridhar KR. (2002) Diversity of endophytic fungi in the roots of mangrove species on west coast of India. *Can J Of Microb*;48: 871-878.
- [3] Guangquan Li, Dan He, Yongqing Qian, Buyuan Guan, Song Gao, Yan Cui, Koji Yokoyama and Li Wang. "Fungus-Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Aspergillus terreus*," *Int. J.Mol. Sci.*, vol. 13, pp. 466-476, 2012.
- [4] Cendranata WO. (2012). Daya Hambat Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata*) Terhadap Populasi Bakteri Pada Ulser Recurrent Aphthous Stomatitis. *Jurnal PDGI*, Vol. 61, No. 1, pp20-3.
- [5] Ni Nyoman Rupiasih, Avinash Aher, Suresh Gosavi and P. B. Vidyasagar. (2013). "Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Latex Extract of *Thevetia peruviana*: a novel approach towards poisonous plant utilization." *Journal of Physics: Conference Series*, vol. 423 (012032),
- [6] Asmita J. Gavhane, P. Padmanabhan, Suresh P. Kamble and Suresh N. Jangle. (2012) "Synthesis of Silver Nanoparticles Using Extract of Neem Leaf and Triphala and Evaluation of Their Antimicrobial Activities." *Int. J. Pharm. Bio. Sci.*, vol. 3 (3), pp. 88-100, July.
- [7] Bandyopandhyay, A.K. (2008). *Nano Material*, New Age International Ltd, New Delhi.
- [8] Feldheim, D.L and Foss, C.A Jr. (2002). *Metal nanoparticles; Synthesis, characterization and Applications*, Marcel Dekker Inc, Switzerland.
- [9] Heruwati, E. S., Sophia, R. A. dan Mangunwardoyo, Wibowo. (2008). *Penghambatan Enzim L-Histidine Decarboxylase Dari Bakteri Pembentuk Histamin Menggunakan Asam Benzoat*. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 3(2), 97-106.
- [10] Chen, Lingxin., Qi, Nan., Wang, Xiaokun., Chen, Lin., You, Huiyan. and Li, Jinhua. (2014). *Ultrasensitive surface-enhanced Raman scattering nanosensor for mercury ion detection based on functionalized silver nanoparticles*. *RSC Advances*. 4(29), 15055-15060: <https://doi.org/10.1039/C3RA47492E>

- [11] Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants, 2638–2650. <https://doi.org/10.1039/c1gc15386b>
- [12] Elumalai, E.K., Prasad, T.N.V.K.V., Nagajyothi, P.C. & David, E. (2011). A bird's eye view on biogenic silver nanoparticles and their applications. *Der Chemica Sinica*. 2(2): 88-97.
- [13] Kesharwani, J., Yoon, K.Y., Hwang, J. & Rai, M., (2009). Phytofabrication of silver nanoparticles by leaf extract of *Datura metel*: hypothetical mechanism involved in synthesis. *Journal of Bionanoscience*. 3(1): 39-44.
- [14] Shankar, S.S. (2004). Rapid synthesis of Au, Ag and Bi, metallic Au Core–Ag shell nanoparticles using neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *Journal of Colloid and Interface Science*. 275(4): 496-502.
- [15] Solomon, S.D., Bahadory, M., Jeyarajasingam, A.V., Rutkowsky, S.A. & Boritz, C. (2007). *Synthesis and study of silver nanoparticles*. *Journal Chemistry Education*. 84(2): 322-325.
- [16] Badi'ah, H.I., Seede, F., Supriyanto, and Zaidan, A.H., (2019). *Synthesis of Silver Nanoparticles and Development in Analysis Method*. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science.
- [17] Singh, R. K., Panigrahi, B., Mishra, S., Das, B., Jayabalan, R., Parhi, P. K., Mandal, M., (2018). *pH triggered green synthesized silver nanoparticles toward selective colorimetric detection of kanamycin and hazardous sulfide ions*. *Journal Accepted Manuscript*. doi:10.1016/j.molliq.2018.08.056.