

Green Synthesis Nanopartikel Perak dengan Bioreduktor Ekstrak Daun Rami (*Boehmeria nivea*) Melalui Iradiasi Microwave

Victor Handoko¹, Afina Yusradinan², Annas Nursyahid¹, Ayu Wandira², Asri Peni Wulandari^{2*}

¹Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran

²Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran

*Penulis korespondensi: asri.peni@unpad.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v10.n1.35755>

Abstrak: Nanopartikel perak dikategorikan sebagai material antibakteri karena kemampuannya merusak integritas membran sel bakteri. Terdapat berbagai metode untuk menyintesis nanopartikel perak, salah satunya adalah dengan pendekatan *green synthesis* menggunakan bioreduktor ekstrak tanaman. Daun rami (*Boehmeria nivea*) mengandung senyawa aktif yang bersifat antibakteri dan antiviral seperti etil palmitat, 1-(4-bromobutil)-2-piperidinon, dan α -metil linoleat. Selain itu ekstrak daun rami berpotensi mereduksi ion perak menjadi nanopartikel perak karena mengandung senyawa dietilen glikol, asam miristoleat dan tetradeka-13-en-11-un-1-ol. Proses reduksi ion perak dapat dioptimalkan dengan iradiasi microwave melalui pemanasan yang seragam dan cepat. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan *green synthesis* dan karakterisasi nanopartikel perak dengan ekstrak daun rami melalui iradiasi microwave. Tahapan penelitian ini terdiri dari pembuatan ekstrak daun rami, sintesis nanopartikel perak dengan prekursor perak nitrat, dan karakterisasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, FT-IR, PSA dan XRD. Hasil pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan adanya serapan pada panjang gelombang 444 nm yang mengonfirmasi terbentuknya nanopartikel perak. Berdasarkan hasil PSA dan SEM diketahui nanopartikel perak terbentuk di antara sejumlah aglomerat. Hasil FT-IR menunjukkan adanya peran senyawa fenolik dari ekstrak dalam mereduksi prekursor perak nitrat, sedangkan hasil XRD menunjukkan kristal berbentuk kubus berpusat muka dengan rata-rata ukuran krsital sebesar 18,80 nm.

Kata kunci: bioreduktor, microwave, nanopartikel, perak, rami

Abstract: Silver nanoparticles are categorized as antibacterial materials due to their ability to damage bacterial cell membranes. There are various methods to synthesize silver nanoparticles, one of them is the green synthesis approach using plant extract as bioreduktor. Ramie leaf (*Boehmeria nivea*) contains many active compounds with antibacterial and antiviral properties such as ethyl palmitate, 1-(4-bromobutyl)-2-piperidinone, and α -methyl linoleate. Ramie leaf extract also has the potential to reduce silver ions into silver nanoparticles due to its potential reduction compounds such as diethylene glycol, myristolic acid and tetradec-13-en-11-un-1-ol. Silver ion reduction optimized by microwave irradiation through uniform and fast heating process. This study aims to develop green synthesis and characterize silver nanoparticles with ramie leaf extract through microwave irradiation. Research stages consisted of making ramie leaf extract, synthesizing silver nanoparticles from silver nitrate precursor, and characterization using UV-Vis, FT-IR, PSA, and XRD spectrophotometers. The UV-Vis spectrophotometer result shows absorption at the wavelength of 444 nm, which confirmed the silver nanoparticles formation. Based on the results of PSA and SEM, it is known that silver nanoparticles are formed between many agglomerates. The FT-IR results show that apart from being a bioreduktor, ramie extract also acts as nanoparticles capping agent, while the XRD results show a face-centered cubic crystal with an average size of 18.80 nm.

Keywords: bioreduktor, microwave, nanoparticle, silver, ramie

PENDAHULUAN

Nanopartikel merupakan material yang mendapat banyak perhatian dalam beberapa tahun terakhir karena sifatnya yang unik dan berkorelasi terhadap ukuran, bentuk, dan morfologi (Husen & Siddiqi 2014). Salah satu nanopartikel yang paling banyak

diteliti adalah nanopartikel perak. Sifat yang unggul dari nanopartikel perak adalah efektivitasnya dalam membunuh bakteri, antiinflamasi, antiviral, antijamur dan antiangiogenesis (Wei *et al.* 2015). Nanopartikel perak secara perlahan akan membebaskan ion perak

yang dapat merusak RNA dan DNA bakteri sehingga menghambat replikasi bakteri (Fernando *et al.* 2018).

Pada umumnya nanopartikel perak dapat disintesis dengan beberapa metodologi di antaranya kimia, fisika, dan biologi. Metode fisika dan kimia memiliki keunggulan di antaranya kemurnian yang diperoleh tinggi dan preparasi yang mudah. Namun dua metode tersebut tidak ramah lingkungan karena menggunakan reagen yang berbahaya. Saat ini metode biologi dengan pendekatan *green synthesis* banyak digunakan karena ramah lingkungan, murah, sederhana, dan mudah dilakukan *scale up* untuk skala industri (Siddiqi & Husen 2016). Pada metode biologi, reduktor yang digunakan berasal dari berbagai ekstrak tanaman yang umumnya mudah ditemukan di negara tropis seperti Indonesia.

Rami (*Boehmeria nivea*) adalah tanaman dari keluarga Urticaceae yang seluruh organnya dapat dimanfaatkan salah satunya daun. Daun rami mengandung beberapa senyawa aktif seperti alkaloid, lignin, flavonoid, terpenoid, glikosida, asam behenat, asam ursolat, sitosterol, kolesterol, kiwiinoside, rutin, urasil, quercetin, α -amyrin, nonakosanol, emodin, emodin-8-O- β -glukosida, polidatin, katekin, epikatekin, dan *epicatechin gallate* (ECG) (Cho *et al.* 2016). Senyawa-senyawa tersebut dapat bersifat antiinflamasi, antiviral, antibakteri, antitumor, dan antioksidan (Lim *et al.* 2020). Selain itu, gugus hidroksil yang terkandung dalam senyawa-senyawa tersebut berpotensi untuk mereduksi ion perak menjadi nanopartikel perak (Loo *et al.* 2012).

Proses reduksi nanopartikel perak umumnya menggunakan pemanasan konvensional, namun metode ini memiliki kekurangan seperti membutuhkan waktu yang lama, pemanasan yang tidak merata, mengkonsumsi daya dan energi yang sangat tinggi, serta tidak efisien. Pemanasan yang tidak merata dapat mempengaruhi homogenitas dan distribusi ukuran nanopartikel perak yang tidak teratur (Zhang *et al.* 2017). Untuk mengatasi berbagai permasalahan tersebut, digunakan iradiasi *microwave* karena waktu pemanasan yang singkat, pemanasan bersifat seragam, mengonsumsi daya dan energi yang lebih sedikit dibandingkan pemanasan konvensional sehingga lebih efektif, efisien serta ramah lingkungan (Punuri *et al.* 2012).

Sampai saat ini belum ada penelitian mengenai pemanfaatan ekstrak daun rami sebagai bioreduktor untuk sintesis nanopartikel perak. Berdasarkan hal tersebut penelitian ini bertujuan untuk melakukan *green synthesis* dan karakterisasi nanopartikel perak dengan ekstrak daun rami melalui iradiasi *microwave*. Bioreduktor digunakan untuk meminimalisir penggunaan bahan-bahan anorganik berbahaya dan tidak ramah lingkungan (Fabiani dkk. 2018). Pemanasan menggunakan iradiasi *microwave* bertujuan untuk mempercepat waktu reaksi, optimasi hasil produksi, penghematan biaya produksi, dan pemanasan lebih merata sehingga dapat menghemat energi.

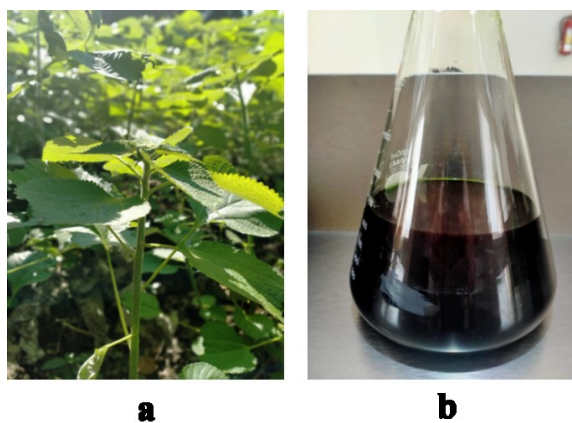
BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah AgNO_3 p.a (Merck), etanol 96%, akuades serta daun rami diperoleh dari diperoleh dari kebun rami (CV Narasirama) di Cikeruh, Sumedang, Jawa Barat.

Pembuatan Ekstrak Daun Rami

Pertama-tama daun rami dicuci dengan air mengalir lalu dikeringkan. Daun yang telah kering dan bersih direndam dalam etanol 96% selama 3×24 jam, kemudian disaring untuk memisahkan partikel besar yang mungkin tercampur. Sampel selanjutnya dievaporasi dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C . Konsentrat yang dihasilkan disonikasi dengan ditambahkan beberapa tetes etanol sebagai pelarut. Ekstrak yang terbentuk dianalisis dengan *gas chromatography-mass spectroscopy* (GC-MS). Gambar 1 menunjukkan daun rami dan ekstrak daun rami yang digunakan dalam penelitian ini.



Gambar 1. (a) Daun rami; dan (b) ekstrak daun rami

Sintesis Nanopartikel Perak Ekstrak Daun Rami

Sampel ekstrak rami dengan variasi 1, 2 dan 3 mL ditambahkan ke dalam *beaker glass* yang berisi 50 mL AgNO_3 50 mM. Larutan kemudian diaduk dengan *magnetic stirrer* hingga homogen, kemudian diiradiasi dengan *microwave* 2450 MHz 300 W selama 3 menit pada sistem tertutup. Selanjutnya larutan disentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm selama 15 menit hingga didapatkan endapan nanopartikel perak. Endapan dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 80°C selama 24 jam. Kemudian ditentukan variasi ekstrak yang menghasilkan nanopartikel perak dengan rendemen terbanyak. Nanopartikel perak yang berhasil disintesis dengan variasi ekstrak terpilih, kemudian dikarakterisasi dengan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific) dan *Fourier Transform Infra Red* (FT-IR, Thermo Fisher Scientific), *X-Ray Diffraction* (XRD, Rigaku Smart Lab), *Scanning Electron Microscope* (SEM, Hitachi SU3500), serta *Particle Size Analyzer* (PSA, Beckman-Coulter LS 13 320).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis GC-MS

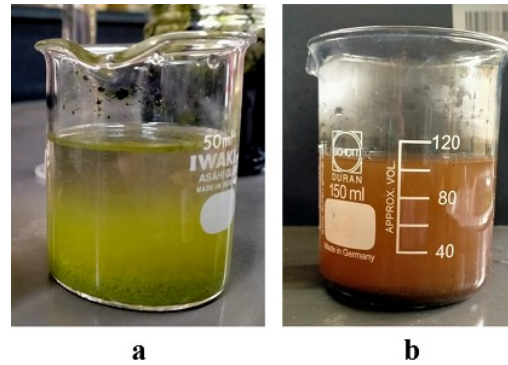
Pada hasil analisis GC-MS ditemukan beberapa senyawa dalam ekstrak daun rami. Beberapa senyawa telah ditelusuri memiliki sifat antibakteri dan berpotensi sebagai bioreduktor.

Struktur molekul beberapa senyawa yang ditampilkan pada Tabel 1 diketahui berpotensi mempunyai karakter bioaktif dengan sifat antimikrobiahnya, dengan adanya beberapa ikatan molekul kimia yang dapat berfungsi sebagai molekul pereduksi. Data ini mengonfirmasi peluang ekstrak daun rami yang digunakan dapat berperan sebagai agen bioreduktor bagi AgNO_3 .

Hasil Sintesis Nanopartikel Perak Ekstrak Daun Rami

Pengaruh perlakuan iradiasi microwave dalam sintesis nanopartikel dengan bioreduktor ekstrak daun rami ditunjukkan pada Gambar 2.

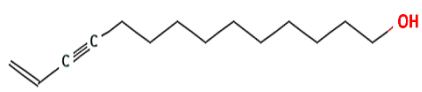

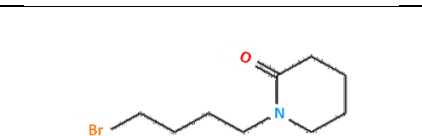
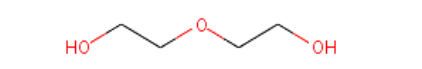
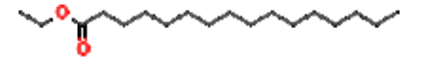
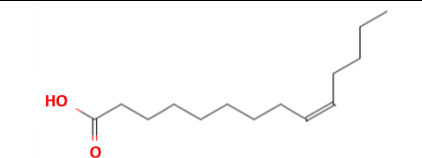
Proses sintesis nanopartikel perak dilakukan secara *green synthesis* dengan cara mereduksi AgNO_3 dengan bioreduktor ekstrak rami dalam iradiasi microwave. Iradiasi microwave akan mempercepat proses reduksi yang dapat berpengaruh langsung pada proses nukleasi sintesis nanopartikel perak melalui pemanasan yang homogen. Hal tersebut didukung oleh dasar kinetika reaksi dimana

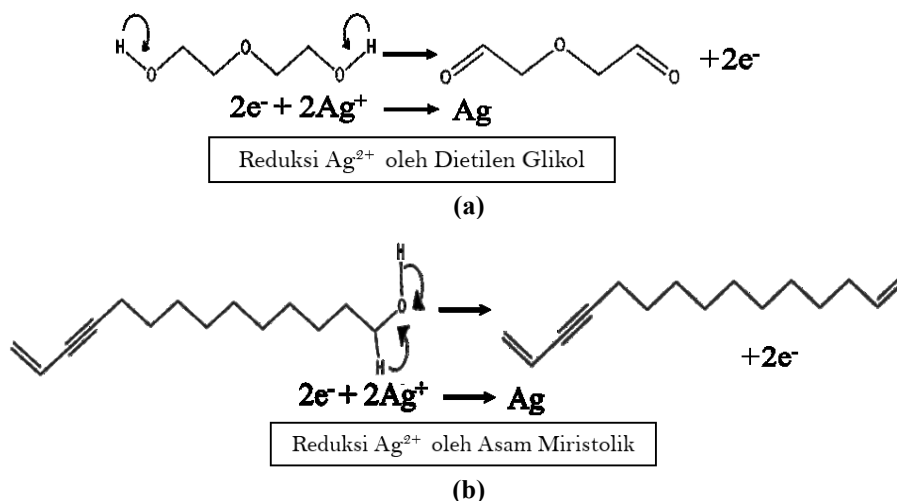


Gambar 2. Perubahan warna larutan pada akibat pengaruh perlakuan tanpa iradiasi (a); dan dengan perlakuan iradiasi microwave (b)

pemanasan dapat meningkatkan intensitas tumbukan sehingga memperbesar kemungkinan terjadinya interaksi antara reduktor dan prekursor. Perubahan warna larutan dari warna hijau menjadi coklat serta terbentuknya endapan coklat mengindikasikan terbentuknya nanopartikel perak dalam larutan. Warna hijau terbentuk akibat keberadaan bioreduktor yang pada dasarnya mengandung pigmen klorofil, sedangkan warna coklat merupakan warna khas nanopartikel perak akibat adanya *Surface Plasmon Resonance* (SPR). Prinsip kerja tanaman dalam mereduksi nanopartikel perak adalah dengan

Tabel 1. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak daun rami berdasarkan hasil analisis GC-MS

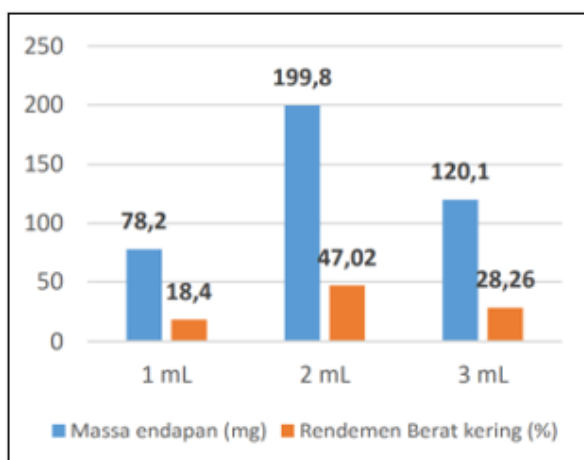
Senyawa Antibakteri	Struktur	Deskripsi	Referensi
Tetradeka-13-en-11-un-1-ol		Senyawa antibakteri dan kandidat proses reduksi Ag^+ dengan gugus fungsi OH	Kristiani <i>et al.</i> (2016)
α -metil linoleat		Senyawa antibakteri	Fitriana (2017)
1-(4-bromobutil)-2-piperidinon		Senyawa antibakteri	Dawood <i>et al.</i> (2019)
Dietilen glikol		Kandidat proses reduksi Ag^+ dengan gugus fungsi OH	Loo <i>et al.</i> (2012)
Etil palmitat		Kandidat proses reduksi Ag^+ dengan gugus fungsi OH	Dawes <i>et al.</i> (2015)
Asam miristoleat		Kandidat proses reduksi Ag^+ dengan gugus fungsi OH	Agasti & Kaushik (2014)



Gambar 3. Mekanisme pembentukan nanopartikel perak oleh molekul (a) dietilen glikol dan (b) asam miristolik

memanfaatkan kemampuan senyawa pada tanaman yang memiliki gugus hidroksil yang mampu mereduksi Ag^+ yang bermuatan (Ag^+) menjadi nanopartikel Ag^0 . Proses reduksi diilustrasikan sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 3.

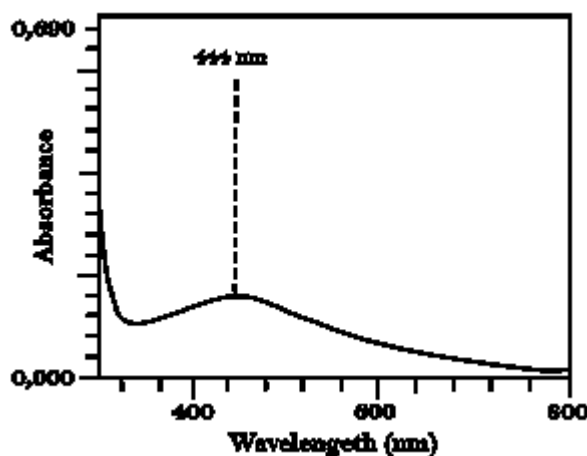
Hasil dari sintesis nanopartikel Ag dengan menggunakan bioreduktor ekstrak daun rami menghasilkan serbuk kering berwarna coklat kehitaman. Dengan variasi penambahan ekstrak sebanyak masing-masing 1 mL, 2 mL, dan 3 mL menghasilkan massa endapan secara berurutan yaitu: 0,0782 mg; 199,8 mg; dan 120,1 mg dengan rendemen sebesar 18,4%; 47,02%; dan 28,26% seperti terlihat pada Gambar 4. Hasil menunjukkan bahwa proses sintesis nanopartikel perak memberikan rendemen terbanyak pada penambahan bioreduktor 2 mL, sehingga nanopartikel perak hasil sintesis dengan penambahan 2 mL ekstrak rami dipilih untuk dikarakterisasi.



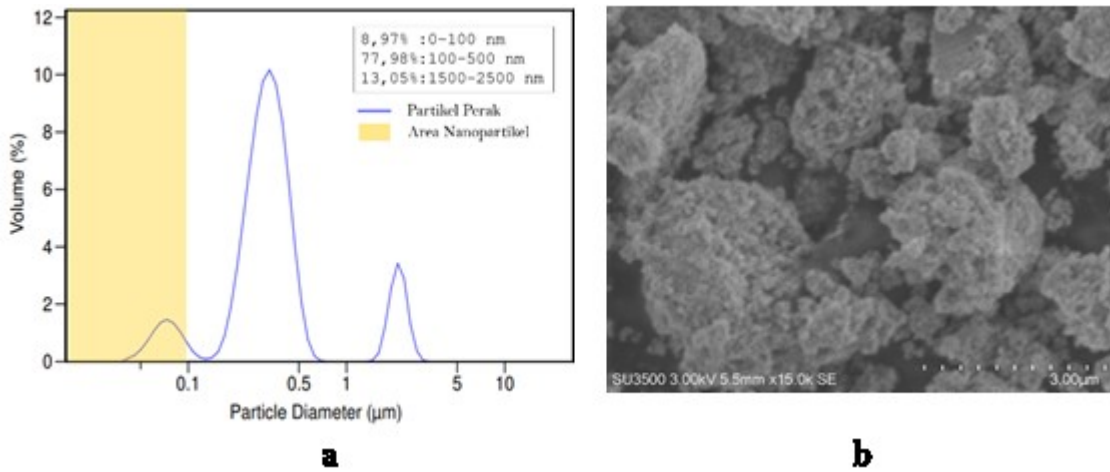
Gambar 4. Perolehan massa dan rendemen nanopartikel perak

Analisis Absorpsi Nanopartikel Ag dengan UV-Vis

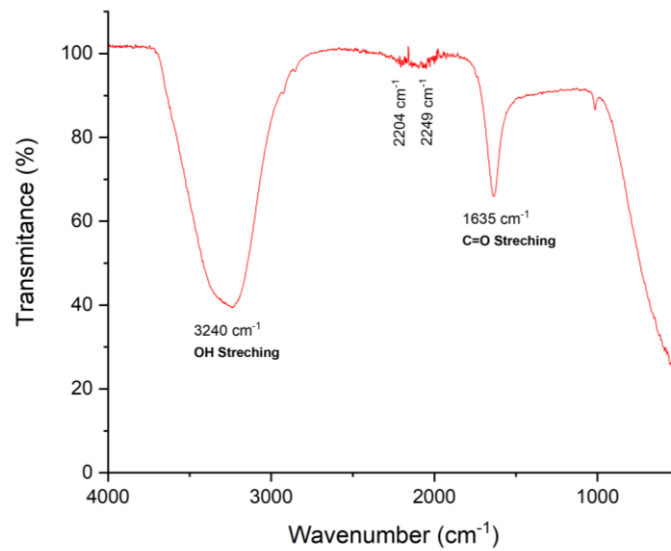
Terbentuknya nanopartikel perak tidak hanya ditandai dengan adanya perubahan warna larutan menjadi kecoklatan, melainkan juga dapat ditandai dengan adanya λ_{maks} di kisaran 400-450 nm yang merupakan khas nanopartikel perak (Solomon *et al.* 2007). Gambar 5 menampilkan hasil pengukuran spektroskopi UV-Vis pada sampel nanopartikel perak hasil sintesis dengan ekstrak daun rami. Hasil spektrum UV-Vis menunjukkan adanya serapan pada panjang gelombang 444 nm yang dapat mengonfirmasi terbentuknya nanopartikel perak akibat adanya aktivitas *surface plasmon resonance* (Ashraf *et al.* 2016). Walaupun bentuk serapan yang lebar dan tidak tajam, pada posisi panjang gelombang tersebut menunjukkan hasil reduksi ion Ag^+ belum maksimal sebagai produk nanopartikel yang monodispersi.



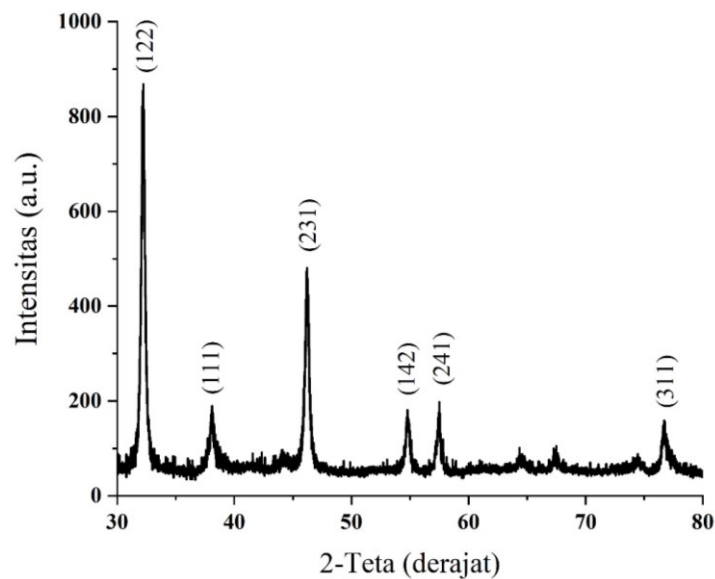
Gambar 5. Spektrum UV-Vis hasil sintesis nanopartikel Ag dengan bioreduktor ekstrak daun rami (*B. nivea*)



Gambar 6. Hasil analisis ukuran perak (Ag) dengan bioreduktor ekstrak daun rami: (a) grafik hasil PSA; (b) hasil SEM



Gambar 7. Hasil analisis identifikasi gugus fungsi nanopartikel Ag dengan bioreduktor ekstrak daun rami menggunakan FT-IR



Gambar 8. Difraktogram XRD nanopartikel Ag dengan bioreduktor ekstrak daun rami

Hasil Karakterisasi Ukuran Nanopartikel dengan PSA dan SEM

Hasil analisis ukuran partikel dan penampakan permukaan dengan menggunakan PSA dan SEM ditunjukkan pada Gambar 5.

Berdasarkan grafik hasil PSA, nanopartikel perak yang terbentuk masih terdistribusi dalam ukuran partikel polidispersi. Ukuran partikel polidispersi ini ditandai dengan adanya lebih dari satu puncak (Gambar 6a) dengan partikel yang berukuran nano (1-100 nm) berkisar sebesar 8,97%. Fenomena pembentukan nanopartikel perak selanjutnya dikonfirmasi dengan hasil *scanning electron microscope* (SEM) (Gambar 6b). Hasilnya menunjukkan bahwa partikel perak hasil sintesis masih berbentuk polikristalin, walaupun beberapa partikel dengan ukuran nanometer sudah dapat diamati.

Identifikasi Gugus Fungsi dengan FT-IR

Hasil analisis spektrum FT-IR menunjukkan adanya pita serapan yang lebar pada bilangan gelombang 3240 cm^{-1} (Gambar 7) yang ditandai dengan adanya vibrasi ulur O-H. Pita serapan ini diduga berasal dari adanya kontribusi senyawa fenolik pada ekstrak yang dimungkinkan sebagai bioreduktor.

Serapan pada bilangan gelombang 1635 cm^{-1} disebabkan adanya mode vibrasi C=O yang merupakan gugus karbonil yang terbentuk pada reduktor setelah mereduksi nanopartikel perak. Selain itu elektron bebas pada atom O dari C=O memberikan fungsi *capping agent* pada bioreduktor terhadap nanopartikel perak yang terbentuk. Pergeseran kecil pada bilangan gelombang 2204,55 dan 2049,01 mengindikasikan adanya koordinasi konstituen kimia dalam ekstrak daun rami dengan permukaan logam dengan terbentuknya nanopartikel perak dalam jumlah kecil.

Hasil Karakterisasi dengan XRD

Analisis XRD dilakukan untuk mengetahui karakter struktur dan ukuran kristal dari nanopartikel perak yang diperoleh. Hasil difraktogram XRD dapat dilihat pada Gambar 8.

Pada Gambar 8 terlihat pola difraksi partikel yang diperoleh dengan intensitas difraksi yang diukur dari rentang 30° sampai 80° , setidaknya terdapat delapan refleksi Bragg yaitu pada $32,08^\circ$; $38,15^\circ$; $46,55^\circ$; $53,48^\circ$; $57,00^\circ$; $64,33^\circ$; $67,82^\circ$; dan $77,19^\circ$ yang secara berurutan mewakili indeks hkl (110), (111), (112), (022), (112), (022), (222), dan (113) yang menunjukkan indikasi struktur kristal kubik berpusat muka. Untuk hasil dari *interplanar spacing* secara berurutan adalah 2,78; 2,35; 1,94; 1,71; 1,61; 1,44; 1,38; dan 1,23 Å. Menggunakan persamaan Scherrer, dari setiap puncak diperoleh nilai ukuran kristal secara berurutan yaitu 19,86; 17,74; 2,70; 21,37; 21,72; 19,81; 2,99; dan 21,45 nm dengan rata-rata ukuran kristal sebesar 18,80 nm.

KESIMPULAN

Green synthesis nanopartikel perak berhasil dilakukan dengan menggunakan bioreduktor ekstrak daun rami. Hasil pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan adanya serapan pada panjang gelombang 444 nm yang mengonfirmasi terbentuknya nanopartikel perak. Berdasarkan PSA dan SEM diketahui nanopartikel terbentuk sebanyak 8,97% di antara aglomerat. Hasil FT-IR menunjukkan adanya peran senyawa fenolik dari ekstrak daun rami dalam mereduksi prekursor perak nitrat, sedangkan hasil XRD menunjukkan kristal berbentuk kubus berpusat muka dengan rata-rata ukuran kristal sebesar 18,80 nm.

DAFTAR PUSTAKA

- Agasti, N. & Kaushik, N. (2014). Myristic acid capped silver nanoparticles: aqueous phase synthesis and pH-induced optical properties. *Journal of the Chinese Advanced Materials Society*. **2(1)**: 5-11.
- Ashraf, J.M., Ansari, M.A., Khan, H.M., Alzohairy, M.A. & Choi, I. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles and characterization of their inhibitory effects on AGEs formation using biophysical techniques. *Scientific Reports*. **6**: 4-8.
- Cho, S., Lee, D. G., Jung, Y.-S., Kim, H. B., Cho, E. J. & Lee, S. (2016). Phytochemical identification from *Boehmeria nivea* leaves and analysis of (-)-loliolide by HPLC. *Natural Product Sciences*. **22(2)**: 134-139.
- Dawes, G.J.S., Scott, E.L., Le Nôtre, J., Sanders, J.P. & Bitter, J.H. (2015). Deoxygenation of biobased molecules by decarboxylation and decarbonylation—a review on the role of heterogeneous, homogeneous and bio-catalysis. *Green Chemistry*. **17(6)**: 3231-3250.
- Dawood, C.H., Najm, M. & Al-Salman, H.N.K. (2019). Antimicrobial activity of the compound 2-piperidinone, N-[4-Bromo-n-butyl]-extracted from Pomegranate peels. *Asian Journal of Pharmaceutics*. **13(1)**: 4653.
- Fabiani, V., Silvia, D., Liyana, D., & Akbar, H. (2019). Sintesis nanopartikel perak menggunakan bioreduktor ekstrak daun pucuk idat (*Cratogeomys glaucum*) melalui iradiasi microwave serta uji aktivitasnya sebagai antibakteri. *Fullerene Journal of Chemistry*. **4(2)**: 96-101.
- Fernando, S., Gunasekara, T. & Holton, J. (2018). Antimicrobial nanoparticles: applications and mechanisms of action. *Sri Lankan Journal of Infectious Diseases*. **8(1)**: 2-12.
- Fitriana, W.D. (2017). Analisis komponen kimia minyak atsiri pada ekstrak metanol daun kelor. *Jurnal Pharmascience*. **4(1)**: 122 - 129.
- Husen, A. & Siddiqi, K.S., 2014. Phytosynthesis of nanoparticles: concept, controversy and

- application. *Nanoscale Research Letters*. **9(1)**: 1-24.
- Kristiani, E., Nugroho, L., Moeljopawiro, S. & Widyarini, S. (2016). Characterization of volatile compounds of *Albertisia papuana* Becc root extracts and cytotoxic activity in breast cancer cell line T47D. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. **15 (5)**: 959-964.
- Lim, J., Lee, J.H., Lee, B.R., Kim, M.A., Lee, Y.M., Kim, D.K., & Choi, J.K. 2020. Extract of *Boehmeria nivea* suppresses mast cell-mediated allergic inflammation by inhibiting mitogen-activated protein kinase and nuclear factor- κ B. *Molecules*. **25(18)**: 4178-4189.
- Loo, Y., Buong, W. C., Nishibuchi, N. & Son, R. (2012). Synthesis of silver nanoparticles by using tea leaf extract from *Camellia sinensis*. *International Journal of Nanomedicine*. **7**: 4263–4267.
- Punuri, J.B., Sharma, P., Sibyala, S., Tamuli, R. & Bora, U. (2012). Piper betle-mediated green synthesis of biocompatible gold nanoparticles. *International Nano Letters*. **2(1)**: 1-9.
- Siddiqi, K.S. & Husen, A. (2016). Green synthesis, characterization and uses of palladium/platinum nanoparticles. *Nanoscale Research Letters*, **11(1)**: 1-13.
- Mulfinger, L., Solomon, S.D., Bahadory, M., Jeyarajasingam, A.V., Rutkowsky, S.A. & Boritz, C. (2007). Synthesis and study of silver nanoparticles. *Journal of Chemical Education*, **84(2)**: 322.
- Wei, L., Lu, J., Xu, H., Patel, A., Chen, Z.S. & Chen, G. (2015). Silver nanoparticles: synthesis, properties, and therapeutic applications. *Drug Discovery Today*. **20(5)**: 595-601.
- Zhang, K., Ai, S., Xie, J. & Xu, J. (2017). Comparison of direct synthesis of silver nanoparticles colloid using pullulan under conventional heating and microwave irradiation. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*. **47(6)**: 938-945.
-