

**VALIDASI METODE ANALISIS MELAMIN MENGGUNAKAN
NANOPARTIKEL PERAK (NPP) HASIL BIOREDUKSI EKSTRAK BUAH
KERSEN (*Muntingia calabura* L.)**

SKRIPSI

Oleh:
FAUZTA NORMA AYU ANGGRAINI
NIM. 14670011



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

**VALIDASI METODE ANALISIS MELAMIN MENGGUNAKAN
NANOPARTIKEL PERAK (NPP) HASIL BIOREDUKSI EKSTRAK BUAH
KERSEN (*Muntingia calabura* L.)**

SKRIPSI

Oleh:
FAUZTA NORMA AYU ANGGRAINI
NIM. 14670011

Diajukan kepada:
Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

**VALIDASI METODE ANALISIS MELAMIN MENGGUNAKAN
NANOPARTIKEL PERAK (NPP) HASIL BIOREDUKSI EKSTRAK BUAH
KERSEN (*Muntingia calabura L.*)**

SKRIPSI

Oleh:
FAUZTA NORMA AYU ANGGRAINI
NIM. 14670011

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji:
Tanggal: 04 Desember 2018

Pembimbing I



Begum Fauziyah, S.Si., M.Farm.
NIP. 19830628 200912 2 004

Pembimbing II



Dewi Sinta Megawati, M.Sc.
NIP. 19840116 20170101 2 125

Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi



Dr. Rohatul Muti'ah, M.Kes., Apt.
NIP. 19800203 200912 2 003

**VALIDASI METODE ANALISIS MELAMIN MENGGUNAKAN
NANOPARTIKEL PERAK (NPP) HASIL BIOREDUKSI EKSTRAK BUAH
KERSEN (*Muntingia calabura* L.)**

SKRIPSI

Oleh:
FAUZTA NORMA AYU ANGGRAINI
NIM. 14670011

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Tanggal: 04 Desember 2018

Ketua Penguji : Dewi Sinta Megawati, M.Sc.
NIP. 19840116 20170101 2 125

(.....
Shuif

Penguji Utama : Rahmi Annisa, M.Farm., Apt.
NIP. 19890416 20170101 2 123

(.....
Rahmi

Penguji Agama : Abdul Hakim, M.P.I, M.Farm., Apt.
NIP. 19761214 200912 1 002

(.....
Abdul Hakim

Sekretaris Penguji : Begum Fauziyah, S.Si., M.Farm.
NIP. 19830628 200912 2 004

(.....
Begum Fauziyah



Dr. Rohatul Muti'ah, M.Kes., Apt.
NIP. 19800203 200912 2 003

LEMBAR PERSEMBAHAN

Terimakasih penulis persembahkan untuk...

1. Allah SWT dan RasulNya
2. Ayah dan Ibu, terimakasih. Kata itu sangat tidak cukup untuk membalas apa yang telah engkau berikan. Maaf, mungkin aku belum bisa menjadi seperti yang engkau harapkan. Aku sayang kalian.
3. Adikku, Dino. Tumbuhlah menjadi anak yang selalu mencari ridho kedua orangtua.
4. Keluarga besar Bani Jannah, terimakasih untuk kehangatan yang tak pernah padam.
5. Bapak dan Ibu guru dari TK, SD, SMP, MAN, tak lupa juga kepada dosen-dosen Farmasi UIN Malang terutama Bu Begum dan Bu Sinta, terimakasih untuk pengetahuan, nasehat, motivasi, dan pengalamannya.
6. Temanku dari masa di dalam kandungan, Neris. Terimakasih untuk perjuangan yang pernah kita jalani selama ini. Kau curang! wisuda duluan.
7. Teman-temanku dari masa sekolah, terimakasih untuk kebersamaannya.
8. Teman-teman Farmasi 2014, terimakasih untuk gelak tawa yang kalian berikan, kegokilan kalian, kebaikan kalian, kerecehan kalian dan kesabaran kalian. Terimakasih untuk segalanya.
9. Aniq, terimakasih telah menjadi pembimbing ketigaku, tanpamu aku hanyalah butiran tebu.

10. Izza, Mbak Luluk Marjan, Bang Ragib dan Ustadz Mubasysyir, terimakasih telah membantuku dalam hal bahasa asing, dan Reyhan sang editor, terimakasih.
11. Mebel dekat ATM BRI belakang uin, terimakasih pak saya sering meminta buah kersennya, untungnya bapak baik.
12. Teman se-atap selama di perantauan, Chorida, Isma, Radhinda dan teman-teman kos dari zaman muda sampai menuju sedikit tua, terimakasih untuk rumah keduanya, terimakasih untuk hidup bersamanya, terimakasih untuk kejailannya, terimakasih untuk keusilannya. Terimakasih sekali.
13. Teman hidupku dan keluargaku dari masa depan, terimakasih karena ketika mengingatmu aku semakin semangat untuk menyelesaikan karyaku ini.
14. Salafudin Nasuha, terimakasih untuk kepengertianmu, kedewasaanmu, kesabaranmu, keberanianmu, kemanutanmu, kelegowoanmu dan ketabahanmu dalam menghadapiku.
15. Terimakasih banyak untuk diriku sendiri yang tak henti-hentinya berjuang baik ketika lelah maupun ingin menyerah.
16. Dan semua yang mengenalku, terimakasih untuk kebaikan kalian semua. Sekali lagi terimakasih.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fauzta Norma Ayu Anggraini

NIM : 14670011

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan

Judul Penelitian : Validasi Metode Analisis Melamin Menggunakan Nanopartikel Perak (NPP) Hasil Bioreduksi Ekstrak Buah Kersen (*Muntingia calabura* L.)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, Desember 2018
Yang membuat pernyataan,



Fauzta Norma Ayu Anggraini
NIM. 14670011

MOTTO



KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan tugas akhir/skripsi ini dengan baik.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terimakasih seiring do'a dan harapan jazakumullah ahsanal jaza' kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terimakasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag., selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah banyak memberikan pengetahuan dan pengalaman yang berharga.
2. Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto, Sp.B., Sp.BP-REK (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt. selaku ketua Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan.
4. Ibu Begum Fauziyah, S.Si., M.Farm. selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah banyak memberikan bimbingan dan pengarahan yang berharga.
5. Ibu Dewi Sinta Megawati, M.Sc. selaku konsultan yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis demi dapat terselesainya penelitian ini.

6. Ibu Rahmi Annisa, M.Farm., Apt. selaku penguji utama penulis yang bersedia meluangkan waktu untuk menguji penulis.
7. Bapak Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm., Apt. selaku penguji agama penulis yang bersedia memberikan nasehat dan masukan kepada penulis.
8. Segenap sivitas akademika Program Studi Farmasi, terutama seluruh dosen, terimakasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
9. Ayah dan Ibu yang senantiasa memberikan doa dan restu kepada penulis dalam menuntut ilmu.
10. Semua pihak yang turut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Aamiin Yaa Rabbal 'Alamin.*

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, Desember 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PERSETUJUAN	
HALAMAN PENGESAHAN	
LEMBAR PERSEMBAHAN	
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	
MOTTO	
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
DAFTAR SINGKATAN	ix
ABSTRAK	x
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan	9
1.4 Manfaat	10
1.5 Batasan Masalah	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	12
2.1 Melamin	12
2.1.1 Pengertian Melamin	12
2.1.2 Kegunaan Melamin	12
2.1.3 Bahaya Melamin	13
2.1.4 Batas Cemaran Melamin	14
2.2 Definisi Susu Bubuk	14
2.3 Bayi	14
2.4 Kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.)	15
2.5 Perak.....	16
2.6 Nanopartikel Perak (NPP).....	17
2.6.1 Definisi NPP	17
2.6.2 Sintesis NPP	18
2.6.3 Mekanisme Sintesis NPP	18
2.6.4 Mekanisme Deteksi Melamin	20
2.7 Kolorimetri.....	23
2.8 Spektrofotometer UV-Vis	24
2.9 <i>Particle Size Analyzer</i> (PSA)	25
2.10 Validasi Metode Analisis	26
2.10.1 Linearitas	27
2.10.2 LOD dan LOQ	27
2.10.3 Akurasi.....	28
2.10.4 Presisi.....	28
2.11 Buah Kersen sebagai Rezeki dalam Perspektif Islam	29

BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	31
3.1 Bagan Kerangka Konseptual.....	31
3.2 Uraian Kerangka Konseptual.....	32
3.3 Hipotesis.....	34
BAB IV METODE PENELITIAN	35
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	35
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	35
4.3 Populasi dan Sampel.....	35
4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	36
4.4.1 Variabel Penelitian.....	36
4.4.2 Definisi Operasional.....	37
4.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	38
4.5.1 Alat.....	38
4.5.2 Bahan.....	39
4.6 Prosedur Penelitian.....	39
4.6.1 Metode Nanopartikel Perak dengan Bioreduktor Ekstrak Buah Kersen.....	39
4.6.1.1 Ekstraksi Buah Kersen.....	39
4.6.1.2 Pembuatan AgNO ₃ 1 mM.....	39
4.6.1.3 Pembuatan NPP dengan Ekstrak Buah Kersen.....	40
4.6.1.4 Karakterisasi Larutan Nanopartikel Perak.....	40
4.6.1.5 Preparasi Sampel Susu Bubuk Bayi.....	40
4.6.1.6 Aplikasi Nanopartikel Perak.....	40
4.6.2 Pembuatan Larutan Standar Melamin.....	41
4.6.2.1 Pembuatan Larutan Induk Melamin 100 ppm.....	41
4.6.2.2 Pembuatan Larutan Melamin 0,25 ppm.....	41
4.6.2.3 Pembuatan Larutan Melamin 1,5 ppm.....	41
4.6.2.4 Pembuatan Larutan Melamin 2 ppm.....	41
4.6.2.5 Pembuatan Larutan Melamin 2,5 ppm.....	42
4.6.2.6 Pembuatan Larutan Melamin 5 ppm.....	42
4.6.3 Validasi Metode Analisis Melamin Menggunakan NPP.....	42
4.6.3.1 Kurva Baku Standar Melamin.....	42
4.6.3.2 Uji Linearitas NPP.....	42
4.6.3.3 Uji LOD dan LOQ NPP.....	43
4.6.3.4 Uji Presisi NPP.....	43
4.6.3.5 Uji Akurasi NPP.....	44
4.6.4 Validasi Metode Analisis Melamin Menggunakan HPLC.....	45
4.6.4.1 Pembuatan Fase Gerak.....	45
4.6.4.2 Pembuatan Larutan Baku Melamin 100 ppm.....	45
4.6.4.3 Pembuatan Kurva Baku Melamin.....	45
4.6.4.4 Uji Linearitas HPLC.....	45
4.6.4.5 Uji LOD dan LOQ HPLC.....	46
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	47
5.1 Analisis Melamin Menggunakan Nanopartikel Perak.....	47
5.1.1 Pembuatan Nanopartikel Perak dengan Bioreduktor Ekstrak Buah Kersen.....	47

5.1.2 Karakterisasi Larutan Nanopartikel Perak	54
5.1.3 Preparasi Sampel Susu Bubuk Bayi	57
5.1.4 Aplikasi Nanopartikel Perak	59
5.1.5 Validasi Metode Analisis Melamin Menggunakan NPP	63
5.1.5.1 Linearitas NPP	63
5.1.5.2 Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ) NPP	67
5.1.5.3 Presisi NPP	68
5.1.5.4 Akurasi NPP	69
5.2 Validasi Metode Analisis Melamin Menggunakan HPLC	69
5.2.1 Analisis Melamin Menggunakan HPLC	69
5.2.2 Pembuatan Larutan Standar Melamin	71
5.2.3 Validasi Metode Analisis Melamin	71
5.2.3.1 Linearitas HPLC	71
5.2.3.2 Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ) HPLC	73
5.3 Perbandingan Validasi Metode Analisis Melamin Menggunakan NPP dan HPLC	73
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	74
6.1 Kesimpulan	74
6.2 Saran	74
DAFTAR PUSTAKA	75
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Melamin.....	12
Gambar 2.2 Struktur Asam Amino.....	13
Gambar 2.3 Buah Kersen.....	15
Gambar 2.4 Struktur Vitamin C	19
Gambar 2.5 Mekanisme Reaksi Pembentukan NPP dengan Bantuan Sinar Matahari dan Bioreduktor Vitamin C	19
Gambar 2.6 Struktur Flavonoid	19
Gambar 2.7 Mekanisme Reaksi Pembentukan NPP Dan Bioreduktor Flavonoid	20
Gambar 2.8 Panjang Gelombang NPP, NPP ditambah Melamin, NPP Ditambah Asam Sianurat	21
Gambar 2.9 Struktur Asam Sianurat.....	22
Gambar 2.10 Mekanisme Deteksi Melamin	22
Gambar 2.11 Skema Representasi Mekanisme NPP untuk Deteksi Melamin Secara Kolorimetri	23
Gambar 2.12 Panjang Gelombang Nanopartikel Perak dan Penambahan Melamin	25
Gambar 2.13 Contoh Persentase Distribusi Ukuran Partikel	26
Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konseptual	31
Gambar 5.1 Spektra Panjang Gelombang Maksimal Ekstrak Buah Kersen.....	49
Gambar 5.2 Spektra Panjang Gelombang Maksimal AgNO_3 1 mM	51
Gambar 5.3 Spektra Panjang Gelombang Maksimal Nanopartikel Perak	52
Gambar 5.4 Spektra Panjang Gelombang Gabungan AgNO_3 , NPP, dan Ekstrak Buah Kersen.....	52
Gambar 5.5 (a) AgNO_3 Tidak Berwarna.....	53
(b) Ekstrak Buah Kersen Tidak Berwarna.....	53
(c) Nanopartikel Perak Berwarna Kuning.....	53
Gambar 5.6 Ukuran NPP Tiap Minggu	56
Gambar 5.7 Absorbansi dan Ukuran NPP yang Semakin Meningkat pada Tiap Minggu.....	57
Gambar 5.8 (a) NPP Berwarna Kuning.....	60
(b) Sampel + NPP Berwarna Merah	60
Gambar 5.9 Penampakan Visual NPP + Melamin	60
Gambar 5.10 Kurva Regresi Linier Larutan Standar Melamin+NPP.....	64
Gambar 5.11 Skema Ilustrasi Kemungkinan Mekanisme Terganggunya NPP dan Interaksi Ikatan Hidrogen dengan Melamin dan Asam Askorbat.....	66
Gambar 5.12 Kromatogram dan Waktu Retensi Sampel pada Menit ke 2,233	70
Gambar 5.13 Kromatogram dan Waktu Retensi Melamin Standar 4 ppm Pada Menit ke 2,220.....	70
Gambar 5.14 Persamaan Regresi Linier HPLC.....	72

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Analisis Fitokimia <i>M. calabura</i> L.	15
Tabel 2.2 Nilai % <i>Recovery</i> Berdasarkan Nilai Konsentrasi Sampel.....	28
Tabel 2.3 Tingkat Presisi Berdasarkan Konsentrasi Analit.....	29
Tabel 5.1 Perbedaan Panjang Gelombang Maksimal Kersen dari Beberapa Literatur	49
Tabel 5.2 Perbedaan Panjang Gelombang Maksimal AgNO ₃ 1 mM dari Beberapa Literatur	51
Tabel 5.3 Stabilitas NPP	54
Tabel 5.4 Data Perubahan Ukuran NPP	56
Tabel 5.5 Data Spektra Panjang Gelombang Sampel, Melamin, dan NPP	60
Tabel 5.6 Ukuran Partikel dan Panjang Gelombang dari Nanopartikel Perak	61
Tabel 5.7 Hasil Anailisis Larutan Standar Melamin Menggunakan UV-Vis..	64
Tabel 5.8 Parameter Statistika Larutan Standar Melamin.....	66
Tabel 5.9 Presisi Melamin pada Batasan 0,25-5,00 ppm	68
Tabel 5.10 Luas Area Larutan Standar Melamin Menggunakan HPLC	72

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja.....	84
Lampiran 2. Perhitungan Reagen	85
Lampiran 3. Skema Kerja Prosedur	88
Lampiran 4. Perhitungan Validasi Metode NPP	95
Lampiran 5. Perhitungan Validasi Metode HPLC	102



DAFTAR SINGKATAN



EBK	: Ekstrak Buah Kersen
HPLC	: <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
LOD	: <i>Limit of Detection</i>
LOQ	: <i>Limit of Quantitation</i>
NPP	: Nanopartikel Perak
ppm	: <i>Part per Million</i>
RSD	: <i>Relative Standard Deviation</i>
SBR	: Simpangan Baku Relatif
SD	: Standar Deviasi
TCA	: <i>Tri Cloroacetate Acid</i>
UV-Vis	: <i>Ultra Violet-Visible</i>

ABSTRAK

Anggraini, Fauzta Norma Ayu. 2018. Validasi Metode Analisis Melamin Menggunakan Nanopartikel Perak (NPP) Hasil Bioreduksi Ekstrak Buah Kersen (*Muntingia calabura* L.). Skripsi. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Pembimbing: (I) Begum Fauziyah, S.Si., M.Farm.
(II) Dewi Sinta Megawati, M.Sc.

Buah kersen (*Muntingia calabura* L.) merupakan tanaman liar yang memiliki kandungan senyawa anti oksidan yaitu flavonoid dan vitamin C yang memiliki gugus -OH, sehingga dapat dimanfaatkan untuk sintesis nanopartikel perak (NPP). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik (panjang gelombang dan ukuran) nanopartikel perak yang disintesis menggunakan bioreduktor ekstrak buah kersen, mengetahui nilai parameter validasi metode (LOD, LOQ, linearitas, akurasi, dan presisi) analisis melamin menggunakan NPP dengan bioreduktor ekstrak buah kersen, dan mengetahui perbandingan nilai parameter validasi metode (LOD, LOQ, dan linearitas) analisis melamin menggunakan nanopartikel hasil bioreduksi ekstrak buah kersen dengan instrumen HPLC. Karakterisasi nanopartikel perak dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan *Particle Size Analyzer* (PSA). Nilai parameter metode validasi untuk analisis melamin menggunakan NPP diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan HPLC. Hasil penelitian menunjukkan panjang gelombang NPP berada pada 419 nm dan dengan ukuran 58,30 nm. Hasil parameter metode validasi analisis melamin menggunakan NPP dengan UV-Vis dan HPLC berturut-turut menunjukkan nilai linearitas (r) 0,9667 dan 0,9968, nilai LOD 1,207 ppm dan 0,787 ppm, nilai LOQ 4,024 ppm dan 2,624 ppm, serta nilai akurasi NPP dengan %*recovery* 63,04% dan nilai presisi dengan %RSD 1,922% pada konsentrasi analit 1,50 ppm.

Kata Kunci : validasi metode, buah kersen (*Muntingia calabura* L.), melamin, susu bubuk bayi

ABSTRACT

Anggraini, Fauzta Norma Ayu. 2018. Validation of Melamine Analytical Method Using Silver Nanoparticles Obtained by Bioreduction Jamaica Cherry Fruit Extract (*Muntingia calabura* L.). Thesis. Pharmacy Department, Faculty of Medicine and Health Science. State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim, Malang.

Advisors: (I) Begum Fauziyah, S.Si., M.Farm.
(II) Dewi Sinta Megawati, M.Sc.

Jamaica cherry (*Muntingia calabura* L.) is an adventitious plant that contains anti-oxidant compounds, called flavonoids and vitamin C which have –OH groups, so that they can be used for the synthesis of silver nanoparticles. This research was aimed at determining the characteristics (wavelength and size) of silver nanoparticles synthesized using Jamaica cherry extract bioreductor, finding out the parameter validation value (LOD, LOQ, linearity, accuracy, and precision) of melamine analysis using silver nanoparticles with the Jamaica cherry extract and comparing the parameter validation value (LOD, LOQ, and linearity) melamine analysis using nanoparticles obtained from bioreduction of Jamaica cherry extract with HPLC instruments. The characterization of silver nanoparticles was analyzed using UV-Vis spectrophotometers and Particle Size Analyzer (PSA). The parameter value of the validation method for the analysis of melamine using silver nanoparticles was measured using a UV-Vis spectrophotometer and HPLC. The results showed that the silver nanoparticles wavelength was 419 nm and was 58.30 nm. The results of the validation analysis method of melamine using silver nanoparticles with UV-Vis and HPLC showed linearity (r) 0.9667 and 0.9968, LOD value 1.207 ppm and 0.787 ppm, LOQ value 4.024 ppm and 2.624 ppm, and accuracy values of silver nanoparticles with % recovery 63,04% and precision value with % RSD 1.922% at analyte concentration of 1.50 ppm.

Keywords : validation method, jamaica cherry fruit (*Muntingia calabura* L.), melamine, baby milk powder

مستخلص البحث

أنغريني، فوزتا نورما أيو. ٢٠١٨. التحقق من صحة طريقة تحليل الميلايين باستخدام جسيم نانوي فضي الفضية (NPP) الناتج من الاختزال الطبيعي في مستخرجة فاكهة الكرز (*Muntingia calabura L.*)، البحث الجامعي، قسم الصيدلة، كلية الطب و العلم الصحي بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول: بغوم فوزية، الماجستير. المشرف الثاني: ديوي سينتا ميغاواتي، الماجستير. الكلمات الرئيسية: التحقق من صحة الطريقة، فاكهة الكرز (*Muntingia calabura L.*)، الميلايين، الحليب المجفف للأطفال.

فاكهة الكرز (*Muntingia calabura L.*) هي من نباتات برية تحتوي على مركبة مضادة للأكسدة، وهي مركبة الفلافونويد وفيتامين ج التي تتضمن من مجموعة OH، حيث يمكن استخدامها لاعتزال جسيم نانوي فضي (NPP). كان الهدف من هذا البحث هو معرفة خصائص جسيم نانوي فضي من ناحية طول، موجته وحجمه التي تم اعتزالها باستخدام الاعتزال الطبيعي في مستخرجة فاكهة الكرز، ومعرفة الدرجة القياسية للتحقق من صحة طريقة تحليل الميلايين (LOQ، LOD، الخطية، الدقة، والتكرار) باستخدام جسيم نانوي فضي (NPP) الناتج من الاختزال الطبيعي في مستخرجة فاكهة الكرز من خلال جهاز كروماتوغرافيا عالية الأداء (HPLC). تم تحليل خصائص جسيم نانوي فضي باستخدام جهاز المطياف الضوئي (Spektrofotometer) المرئي وفوق البنفسجي (UV-Vis) وجهاز تحليل حجم الجسيمات (PSA). تم قياس درجة قياسية للتحقق من صحة طريقة تحليل الميلايين باستخدام جسيم نانوي فضي باستخدام جهاز المطياف الضوئي المرئي وفوق البنفسجي (UV-Vis) وكروماتوغرافيا عالية الأداء (HPLC). أظهرت النتائج أن طول موجة من جسيم نانوي فضي هو ٤١٩ نم وحجمه هو ٥٨,٣٠ نم. أظهرت نتائج التحقق من صحة طريقة تحليل الميلايين باستخدام جسيم نانوي فضي مع المرئي وفوق البنفسجي (UV-Vis) و كروماتوغرافيا عالية الأداء (HPLC) متتالية كما يلي درجة خطية (r) ٠,٩٦٦٧ و ٠,٩٩٦٨، درجة LOD ١,٢٠٧ فغم و ٠,٧٨٧، وأما درجة LOQ فهي ٤,٠٢٤ فغم و ٢,٦٢٤ فغم، ودرجة دقة جسيم نانوي فضي مع قيمة $recovery$ % هي ٦٣,٠٤ % ودرجة دقة جسيم نانوي فضي مع قيمة RSD % هي ١,٩٢٢ % في تركيز التحليل ١,٥٠ فغم.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Manusia membutuhkan nutrisi untuk kelangsungan hidupnya. Salah satu nutrisi yang dibutuhkan oleh manusia adalah protein. Protein dapat diperoleh melalui produk makanan atau minuman. Produk yang memiliki kandungan protein yang cukup banyak salah satunya terdapat pada susu. Akhir-akhir ini ditemukan kasus bahwa pada susu mengandung zat aditif yang berbahaya bagi kesehatan. Zat aditif tersebut adalah melamin. Penambahan melamin secara ilegal pada susu ditujukan untuk meningkatkan kadar nitrogen yang tinggi (66% massa) sehingga pada saat susu diperiksa seolah-olah susu tersebut mempunyai kandungan protein yang tinggi, karena secara umum kandungan protein ditetapkan menggunakan metode Kjeldahl dengan cara menentukan kandungan nitrogennya (Sun *et al.*, 2010).

Melamin merupakan suatu senyawa kimia organik dalam bentuk kristal, mengandung banyak nitrogen dan biasa digunakan dalam produk non-pangan (MenKes, 2012). Melamin banyak digunakan untuk produksi alat plastik seperti pada peralatan makan (Vail *et al.*, 2007). Selain itu, melamin juga digunakan untuk produksi bahan adesif, laminasi, cat, industri tekstil, lapisan kertas, dan campuran fertilizer (Liu *et al.*, 2012).

Kasus akibat adanya melamin di dalam susu bubuk terjadi di Cina pada 11 September 2008. Kasus tersebut dapat mengakibatkan nefrolitiatis dan gagal ginjal

sebanyak 52.857 kasus, 13.000 anak masuk rumah sakit, dan 3 anak meninggal dunia. Mayoritas kasus terjadi pada anak di bawah umur 3 tahun (82% < 2 tahun; 17% 2-3 tahun; 0,8% > 3 tahun; dan tidak ada kasus yang terjadi pada usia dewasa) (FDA, 2008). Sedangkan di Indonesia, kasus yang terjadi berdasarkan data yang diperoleh dari BPOM tahun 2010-2011, bahwa terdapat melamin pada susu kedelai dan permen susu yang diimpor dari Cina (Nissa, 2011). Meskipun permasalahan di Indonesia belum besar, akan tetapi harus dipertimbangkan keamanan produk susu tersebut agar aman untuk dikonsumsi masyarakat.

Menteri Kesehatan RI telah menetapkan batas maksimal adanya melamin dalam pangan. Batas maksimal adanya melamin, yaitu 1 mg/kg pada formula bayi bentuk bubuk, 0,15 mg/kg formula bayi siap konsumsi, dan 2,5 mg/kg pada pangan lain. Sedangkan WHO^a (2008), menetapkan batas melamin dalam susu formula bayi yaitu tidak melebihi 1 ppm (1 mg/kg).

Adanya melamin dalam produk pangan dapat menyebabkan gagal ginjal. Kasus tersebut terjadi di Amerika Serikat, Kanada dan Afrika dimana adanya melamin pada produk makanan yang diimpor dari Cina menyebabkan kematian pada kucing dan anjing akibat gagal ginjal (WHO^c, 2008). Selain itu, di Hongkong terjadi kasus meninggalnya anak-anak akibat ditemukannya melamin pada susu (Du, 2008 dalam Octaviana dkk., -). Hal ini membuktikan bahwa adanya melamin pada produk pangan memberikan dampak yang buruk bagi kesehatan. Maka, salah satu cara untuk menghindari dampak yang buruk dari melamin, dapat dilakukan dengan menganalisis kadar melamin dalam susu. Beberapa metode seperti elektroforesis kapiler, *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS), *Liquid*

Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS), dan *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)* telah dikembangkan dan digunakan untuk menganalisis kandungan melamin.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Lestari dkk (2011) telah membuktikan bahwa HPLC dapat digunakan untuk analisis melamin, dengan menunjukkan nilai parameter validasi metode linearitas sebesar 0,9988, LOD dan LOQ masing-masing sebesar 0,5194 ppm dan 1,7316 ppm, nilai presisi dengan koefisien variasi 4,263%, dan nilai akurasi dengan % *recovery* 103,60% pada 4 ppm, 65,81% pada 6 ppm, dan 125,28% pada 8 ppm. Meskipun metode tersebut memiliki nilai metode validasi yang tinggi, namun membutuhkan waktu operasional yang lama, dan instrumentasi yang relatif mahal. Dengan demikian, diperlukan pengembangan metode analisis yang sederhana, cepat dan sensitif untuk mempermudah analisis melamin.

Nanoteknologi akhir-akhir ini telah banyak menarik perhatian kepada para peneliti karena memiliki prospek hasil yang lebih akurat. Nanoteknologi adalah penciptaan material, struktur fungsional, maupun piranti dalam skala nanometer dan mencakup semua sifat baru yang muncul setelah material nano tersebut disintesis (Abdullah dan Khairurrijal, 2009). Hasil dari penciptaan nanoteknologi disebut nanopartikel.

Nanopartikel dapat dibuat dari beberapa macam logam, seperti tembaga (Cu), TiO₂, ZnO, MgO, dan perak (Ag). Perak merupakan logam yang umum digunakan, karena sifatnya yang tidak toksik terhadap kulit manusia (Wahyudi, 2011). Nanopartikel perak (NPP) digunakan di berbagai bidang, dan aplikasi utama sebagai katalis, teknik tekstil, elektronik, optik, dan yang paling penting di bidang

kesehatan sebagai bakterisida dan sebagai agen terapeutik (Elumalai *et al.*, 2011). Selain itu, NPP memiliki kelebihan dibandingkan nanopartikel lain, yaitu sifat optis yang lebih baik, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai detektor dan indikator pada kolorimetri (Caro *et al.*, 2010). Metode kolorimetri digunakan untuk mengetahui adanya reaksi yang terjadi antara NPP dan sampel.

Metode kolorimetri digunakan untuk melihat terjadinya reaksi antara dua zat yang tercampur dengan melihat perubahan warna yang terjadi. Penelitian yang dilakukan oleh Rusnaenah dkk (2017) membuktikan bahwa nanopartikel perak menggunakan bioreduktor ekstrak daun ketapang dengan modifikasi asam p-kumarat dapat digunakan untuk mendeteksi melamin dengan rentang 0,1-1000 ppm. Penelitian lain juga telah dilakukan oleh Alam *et al* (2017) bahwa NPP dengan reduktor asam tanat dapat digunakan untuk mendeteksi sampel susu dan dapat mendeteksi melamin dengan rentang 0,05-1,4 μM . Sedangkan hasil penelitian Sari^b (2017) membuktikan bahwa NPP dengan bioreduktor ekstrak buah kersen dapat digunakan untuk analisis logam merkuri.

Ada dua kemungkinan reaksi yang terjadi ketika NPP diaplikasikan untuk mendeteksi melamin, yaitu reaksi pertama adalah berdasarkan kegunaan perak yang tidak termodifikasi. Prinsip reaksi ini adalah reaksi elektrostatik antara golongan amino pada melamin yang bermuatan positif dan permukaan NPP yang bermuatan negatif. Hal ini dapat menyebabkan agregasi NPP dan oleh karena itu, terjadi perubahan warna. Reaksi kedua adalah fungsi ligan tertentu untuk mengenali melamin. Fungsi ligan pada NPP dapat mendeteksi melamin berdasarkan interaksi aseptor dan donor proton. Ketika susu bubuk dengan tidak mengandung melamin

ditambahkan ke dalam NPP, maka tidak terjadi perubahan warna dan tetap berwarna kuning pucat. Akan tetapi, ketika NPP ditambahkan ke dalam susu bubuk yang mengandung melamin, terjadi perubahan warna menjadi merah pucat dan apabila konsentrasi melamin lebih tinggi, maka warna berubah menjadi merah gelap atau lebih pekat (Ramalingam *et al.*, 2017).

Melamin adalah molekul heterosiklik yang mengandung tiga gugus amino eksosiklik ($-NH_2$) dan tiga cincin atom nitrogen hibrida yang dapat menjadi reagen nukleofilik. Melamin juga memiliki kemampuan ikatan hidrogen yang baik dan dapat berinteraksi dengan gugus karboksil dan gugus hidroksil fenolik (Alam *et al.*, 2017). Pada penelitian yang dilakukan oleh Ping *et al.* (2012), ketika melamin ditambahkan ke dalam beberapa larutan NPP yang diletakkan berbaris, secara bersamaan NPP terlihat adanya penggumpalan atau agregasi dan terlihat warna larutan NPP yang bervariasi. Menurut Alam *et al.* (2017), ketika melamin ditambahkan ke dalam larutan NPP, gugus amino dari melamin bereaksi melalui ikatan hidrogen dengan gugus $-COO^-$ yang ada di permukaan NPP. Nanopartikel perak yang tersebar mulai beraglomerasi dan berubah warna dari kuning menjadi merah. NPP agar dapat diaplikasikan pada sampel perlu dilakukan sintesis atau pembuatan. Pembuatan untuk NPP ada beberapa cara. Menurut Ristian (2013), pembuatan NPP dapat dilakukan dengan elektrokimia, fotokimia, sonokimia, *ultrasonic irradiation* dan reduksi kimia. Metode reduksi kimia adalah metode yang paling banyak digunakan, karena selain mudah prosesnya juga sederhana. Metode reduksi kimia dapat dilakukan dengan menggunakan bahan yang ramah lingkungan

dan mudah didapat, yaitu dengan buah kersen (*Muntingia calabura* L.). Seperti pada surat Al Baqarah ayat 22:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ فِرَاشًا وَالسَّمَاءَ بِنَاءً وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجَ بِهِ مِنَ الثَّمَرَاتِ رِزْقًا لَّكُمْ ۗ فَلَا تَجْعَلُوا لِلَّهِ أَنْدَادًا وَأَنْتُمْ تَعْلَمُونَ ﴿٢٢﴾

Artinya: “Dialah yang menjadikan bumi sebagai hamparan bagimu dan langit sebagai atap, dan Dia menurunkan air (hujan) dari langit, lalu Dia menghasilkan dengan hujan itu segala buah-buahan sebagai rezki untukmu; karena itu janganlah kamu mengadakan sekutu-sekutu bagi Allah, Padahal kamu mengetahui.”

Dari ayat tersebut dapat diketahui bahwa setiap apapun yang diciptakan di dunia ini adalah sebuah rezeki dan pasti ada manfaatnya. Dalam kitab tafsir Al-Azhar, Hamka mendefinisikan kata rezeki sebagai pemberian atau karunia yang diberikan Tuhan kepada makhlukNya (Hamka, 1983), seperti pada buah kersen.

Kersen merupakan tumbuhan liar yang banyak tumbuh di lingkungan sekitar. Penelitian yang dilakukan oleh Sari^b dkk (2017) membuktikan bahwa ekstrak aquades buah kersen dapat digunakan untuk mensintesis NPP. Selain itu, adanya vitamin C dan flavonoid pada buah kersen yang memiliki gugus -OH dapat mendonorkan proton dan mereduksi ion Ag^+ menjadi Ag^0 . Vitamin C memiliki nilai potensial reduksi +0,35 dan flavonoid memiliki potensial reduksi +0,33, sedangkan Ag^+ memiliki potensial reduksi yang lebih besar, yaitu +0,80. Oleh karena itu, vitamin C dan flavonoid mampu mereduksi ion Ag^+ menjadi Ag^0 dalam bentuk NPP. Sintesis NPP dengan menggunakan ekstrak buah kersen ini dapat meminimalisir penggunaan bahan-bahan yang berbahaya.

Terbentuknya NPP yang telah disintesis tersebut dapat diketahui dengan melihat perubahan warna yang terjadi, melihat panjang gelombang, dan ukuran.

Menurut Sari^b dkk (2017), indikasi apabila NPP dengan ekstrak buah kersen berhasil dibuat adalah ditandai dengan adanya perubahan warna dari bening menjadi kuning sampai kuning kecoklatan. Selain itu, karakterisasi nanopartikel yang terbentuk dapat dilakukan dengan melihat panjang gelombang menggunakan *Ultra Violet-Visible* (UV-Vis). Panjang gelombang nanopartikel perak adalah berada pada rentang 400-450 nm (Saputra dkk., 2011) untuk mengetahui ukuran yang terbentuk, dapat dilakukan dengan instrumen *Particle Size Analyzer* (PSA), sedangkan untuk mengetahui metode yang digunakan telah sesuai dan memberikan hasil yang valid, dapat diketahui dengan validasi metode.

Validasi adalah suatu proses pembuktian atau konfirmasi melalui pengujian analisis di laboratorium untuk memberikan data tentang kevalidan suatu metode dari suatu prosedur yang digunakan. Tujuan validasi metode analisis adalah untuk membuktikan bahwa metode analisis yang digunakan dalam pengujian mampu memberikan hasil yang cermat sehingga dapat dipercaya (Cahyadi, 2013). Parameter validasi metode analisis yaitu akurasi, presisi, linearitas, LOD, LOQ, selektivitas, kekasaran, dan ketahanan (Aswad dkk., 2011). Pada penelitian ini, parameter metode validasi yang digunakan adalah LOD, LOQ, linearitas, akurasi, dan presisi. Arah kemiringan garis (*b*) atau *slope* untuk parameter linearitas menurut Varun dkk. (2016) ketika nanopartikel perak ditambahkan dengan melamin adalah bernilai negatif, hal ini disebabkan absorpsi NPP semakin menurun karena NPP terganggu oleh intensitas konsentrasi melamin yang semakin meningkat. Gangguan ini disebabkan oleh interaksi yang kuat antara ikatan hidrogen dengan agen pereduksi dan analit melamin. Melamin merupakan nukleofil

kuat yang memiliki sembilan sisi ikatan hidrogen. Dengan demikian, melamin khusus akan berinteraksi dengan pereduksi melalui ikatan hidrogen yang mengganggu dalam proses sintesis NPP. Interaksi ikatan hidrogen mengkonsumsi sejumlah reduktor yang dengan demikian tidak memiliki agen pereduksi yang cukup untuk mengurangi ion Ag, yang mengakibatkan melemahnya kemampuan untuk mengurangi reduktor, maka akan mengakibatkan gangguan dari pembentukan partikel nano. Sehingga, semakin besar konsentrasi melamin maka absorbansi semakin menurun dan penurunan absorbansi dikarenakan oleh penurunan jumlah NPP.

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, NPP dapat disintesis dengan ekstrak buah kersen. Akan tetapi, belum ada penelitian mengenai validasi metode analisis yang membuktikan bahwa NPP yang direduksi dari ekstrak buah kersen dapat digunakan untuk mendeteksi melamin pada susu bubuk bayi. Maka, pada penelitian ini akan dilakukan validasi metode analisis melamin pada susu bubuk bayi menggunakan nanopartikel perak hasil bioreduksi ekstrak buah kersen.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah untuk penelitian ini adalah:

1. Bagaimana karakteristik (panjang gelombang dan ukuran) NPP yang disintesis menggunakan bioreduktor ekstrak buah kersen ?
2. Bagaimana nilai parameter validasi metode (LOD, LOQ, linearitas, akurasi, dan presisi) analisis melamin menggunakan NPP dengan bioreduktor ekstrak buah kersen ?

3. Bagaimana perbandingan nilai parameter validasi metode (LOD, LOQ, dan linearitas) analisis melamin menggunakan NPP hasil bioreduksi ekstrak buah kersen dengan metode analisis melamin menggunakan HPLC yang telah tervalidasi ?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Tujuan Umum

Tujuan umum pada penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan validasi metode NPP hasil bioreduksi ekstrak buah kersen dengan metode menggunakan HPLC yang telah diketahui nilai validasi metodenya, sehingga dapat diketahui metode yang lebih baik untuk analisis melamin pada susu bubuk bayi.

2. Tujuan Khusus

Tujuan khusus pada penelitian ini adalah:

- a. Untuk mengetahui karakteristik (panjang gelombang dan ukuran) NPP menggunakan bioreduktor ekstrak buah kersen.
- b. Untuk mengetahui nilai tiap parameter validasi metode (LOD, LOQ, linearitas, akurasi, dan presisi) NPP menggunakan bioreduktor ekstrak buah kersen.
- c. Untuk mengetahui perbandingan nilai tiap parameter validasi metode (LOD, LOQ, dan linearitas) antara NPP menggunakan bioreduktor ekstrak buah kersen dan metode analisis melamin menggunakan HPLC.

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang metode NPP hasil bioreduksi ekstrak buah kersen untuk analisis melamin pada susu bubuk bayi.

2. Manfaat Aplikatif

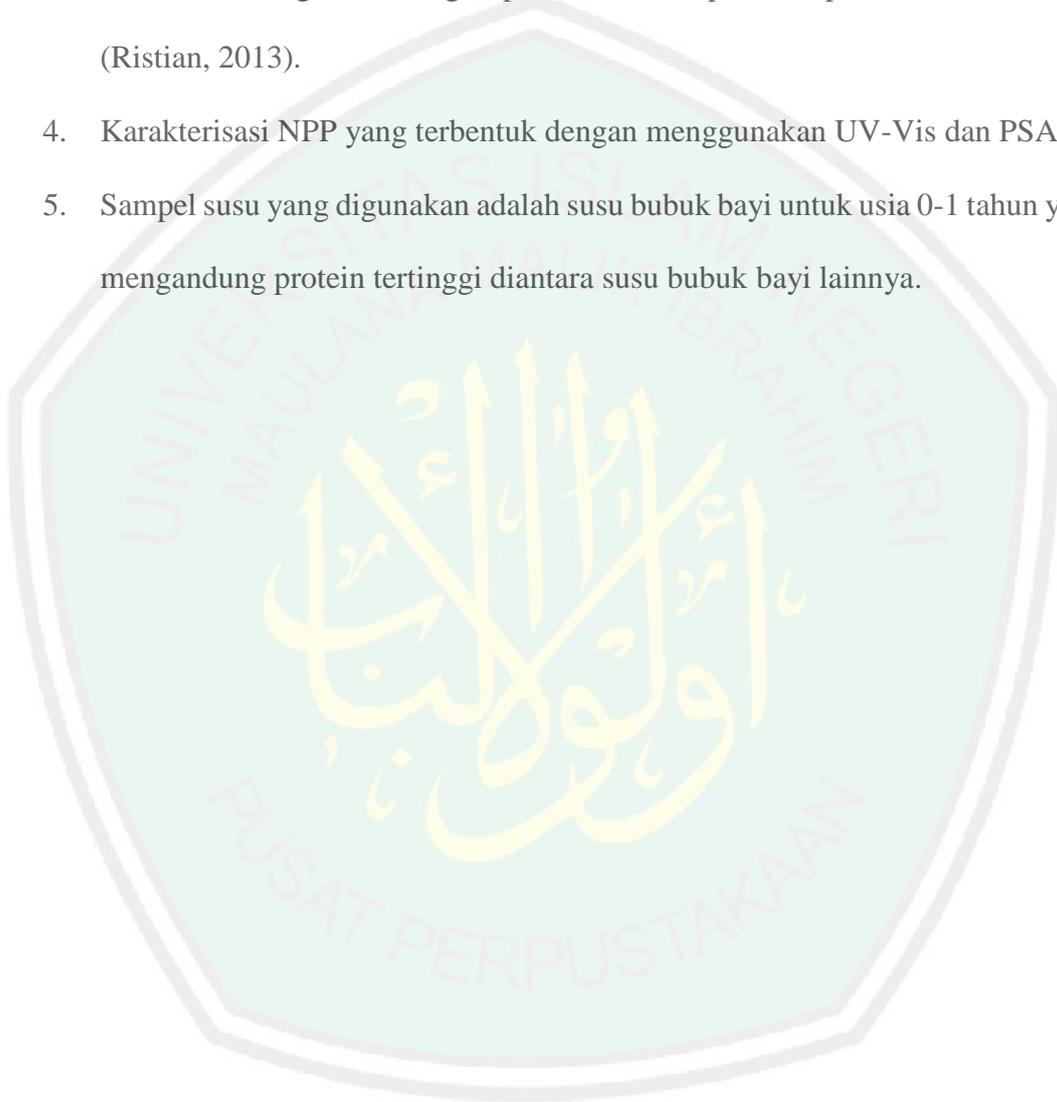
- a. Sebagai landasan penggunaan metode NPP dengan bioreduktor ekstrak buah kersen yang ramah lingkungan dan tersedia di lingkungan untuk analisis melamin pada susu bubuk bayi.
- b. Sebagai landasan informasi nilai tiap parameter validasi (LOD, LOQ, linearitas, akurasi, dan presisi) NPP menggunakan bioreduktor ekstrak buah kersen.
- c. Sebagai landasan informasi perbandingan nilai tiap parameter validasi (LOD, LOQ, dan linearitas) antara NPP menggunakan bioreduktor ekstrak buah kersen dan metode menggunakan HPLC.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah untuk penelitian ini adalah:

1. Kersen (*Muntingia calabura* L.) yang digunakan adalah kersen masak atau berwarna merah dan segar untuk didapatkan flavonoid yang lebih tinggi (Farida dkk., 2009).

2. Preparasi ekstrak buah kersen menggunakan pelarut aquades dan suhu larutan 80°C selama 15 menit (Sari^b dkk., 2017).
3. Konsentrasi AgNO₃ sebagai prekursor nanopartikel perak adalah 1 mM (Ristian, 2013).
4. Karakterisasi NPP yang terbentuk dengan menggunakan UV-Vis dan PSA.
5. Sampel susu yang digunakan adalah susu bubuk bayi untuk usia 0-1 tahun yang mengandung protein tertinggi diantara susu bubuk bayi lainnya.



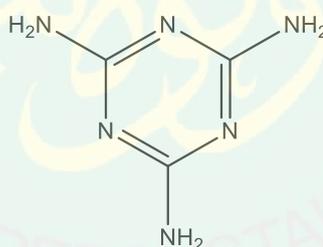
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Melamin

2.1.1 Pengertian Melamin

Melamin adalah suatu senyawa kimia organik yang paling umum didapat dalam bentuk kristal, mengandung banyak nitrogen dan biasa digunakan dalam produk non-pangan, yang apabila digunakan dalam pangan dapat membahayakan kesehatan manusia (MenKes, 2012). Nama lain melamin secara IUPAC adalah 1,3,5-triazine-2,4,6-triamine, memiliki massa molekul sekitar 126 g/mol, berbentuk serbuk kristal putih, dan hanya sedikit larut dalam air. Melamin memiliki kandungan nitrogen sekitar 66% (ScienceLab, 2005). Rumus bangun melamin:



Gambar 2.1 Struktur Melamin (ScienceLab, 2005)

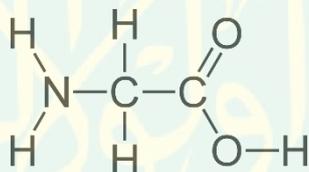
2.1.2 Kegunaan Melamin

Melamin digunakan untuk produksi resin melamin, biasanya bereaksi dengan formaldehid dan digunakan untuk perindustrian, termasuk produksi bahan laminasi, lem, adesif, pencetakan senyawa, pelapisan dan tahan api. Di Amerika Serikat melamin adalah bahan aditif makanan yang digunakan tidak langsung dan

digunakan hanya sebagai bahan adesif. Melamin juga ditemukan di pestisida kromasi pada tanaman, kambing, ayam, dan tikus (WHO^c, 2008).

2.1.3 Bahaya Melamin

Penambahan melamin secara ilegal pada susu ditujukan untuk meningkatkan kadar nitrogen yang tinggi (66%) sehingga pada saat susu diperiksa seolah-olah susu tersebut mempunyai kandungan protein yang tinggi, karena secara umum kandungan protein ditetapkan dengan cara menentukan kandungan nitrogennya (Sun *et al.*, 2010). Protein merupakan kumpulan dari beberapa asam amino. Asam amino mengandung unsur karbon, hidrogen, oksigen, dan belerang (Adams, 1988 dalam Sari, 2011).



Gambar 2.2 Struktur Asam Amino (Anonim, 2015)

Melamin berbahaya jika terminum, terhirup, atau terserap melalui kulit. Paparan secara kronis dapat menyebabkan efek kanker dan kerusakan sistem reproduksi. Para ahli *Food Drug Administration* (FDA) menjelaskan ketika melamin dan asam sianurat terserap dalam darah, maka akan terkonsentrasi dan berinteraksi di dalam saluran kelenjar ginjal saat pengisian urin, lalu akan mengkristal berupa kristal kuning dimana memblok dan merusak sel kelenjar ginjal yang akhirnya menutup saluran ginjal sehingga menyebabkan malfungsi ginjal (WHO^b, 2008).

2.1.4 Batas Cemaran Melamin

Cemaran melamin telah diatur oleh Menteri Kesehatan RI Nomor 034 Tahun 2012 tentang Batas Maksimum Melamin Dalam Pangan, yaitu pada formula bayi bentuk bubuk sebanyak 1 mg/kg; pada formula bayi siap konsumsi 0,15 mg/kg; pada pangan lain 2,5 mg/kg. Pada WHO^a (2008) menetapkan batas limit melamin dalam susu formula bayi dapat ditoleransi sebesar 1 ppm (1 mg/kg).

2.2 Definisi Susu Bubuk

Berdasarkan SNI 3752-2009 (Badan Standarisasi Nasional, 2009), yang dimaksud susu bubuk adalah produk susu yang diperoleh dengan cara mengurangi sebagian besar air melalui proses pengeringan susu segar dan/atau susu rekombinasi yang telah dipasteurisasi, dengan atau tanpa penambahan vitamin, mineral, dan bahan tambahan pangan yang diizinkan. Deputi MENLH (2006) dalam Wardana (2012) menyebutkan bahwa pembuatan susu bubuk merupakan salah satu upaya untuk mengawetkan susu sehingga dapat tahan lebih lama. Susu jenis ini dapat langsung dibedakan dari bentuk dan penampilannya. Produk susu bubuk merupakan hasil proses penguapan dan pengeringan dengan cara penyemprotan dalam tekanan tinggi.

2.3 Bayi

Bayi merupakan individu yang berusia 0-12 bulan yang ditandai dengan pertumbuhan dan perkembangan yang cepat disertai dengan perubahan dalam

kebutuhan zat gizi (Wong, 2003). Pembagian usia menurut Saifudin (2002) adalah sebagai berikut:

- a. Masa neonatal, yaitu usia 0-28 hari: (1) masa neonatal dini, yaitu usia 0-7 hari; (2) masa neonatal lanjut, yaitu usia 8-28 hari.
- b. Masa pasca neonatal, yaitu usia 29 hari-1 tahun.

2.4 Kersen (*Muntingia calabura* L.)

Tumbuhan kersen adalah tumbuhan yang tumbuh di daerah tropis. Total senyawa volatil telah diidentifikasi menggunakan vakum destilasi pada ekstrak buah kersen yang matang. Bagian-bagian tumbuhan kersen (kulit, akar, daun) mengandung flavonon, flavon, flavan, dan biflavan (Sibi *et al.*, 2012).



Gambar 2.3 Buah Kersen (Sumber: Dokumentasi pribadi)

Tabel 2.1 Analisis Fitokimia *M. calabura* L. (Sumber: Singh *et al.*, 2017)

<i>Phytochemicals</i>	<i>Leaf</i>	<i>Bark</i>	<i>Fruit</i>
<i>Glycosides</i>	+	+	+
<i>Flavonoids</i>	+	-	+
<i>Phlobatannins</i>	+	+	-
<i>Saponins</i>	-	-	-
<i>Tannins</i>	+	+	+
<i>Terpenoid</i>	+	+	-

Klasifikasi tumbuhan kersen adalah: (Vijayanand *and* Thomas, 2016)

Kingdom : *Plantae*

Orde : *Malvales*

Family : *Muntingiaceae*

Genus : *Muntingia* L.

Spesies : *Muntingia calabura* L.

Tumbuhan kersen adalah satu-satunya spesies dalam genus *Muntingia* dan merupakan tanaman berbunga yang tumbuh asli di Meksiko selatan, Karibia, Amerika Tengah, dan barat Amerika Selatan ke Peru dan Bolivia. Kersen di Jamaika tumbuh sangat cepat, mencapai tinggi 25 sampai 40 kaki. Daun bergerigi dengan panjang 2,5-15 cm dan lebar 1-6,5 cm. Daun berwarna hijau, berbentuk elips atau bulat telur. Bunga berukuran kecil, putih, dengan 5 kelopak putih dan memiliki banyak benang sari berwarna kuning (Vijayanand *and* Thomas, 2016).

2.5 Perak

Perak memiliki nomor atom 47 dan massa atom 107,8682 g/mol. Melebur pada suhu 960,5°C. Perak memiliki 4 jenis keadaan oksidasi Ag^0 , Ag^+ , Ag^{+2} , Ag^{+3} , dimana dua bentuk utama sangat melimpah dan dua berikutnya cenderung tidak stabil, terutama di lingkungan air (WHO, 2002). Perak memiliki konduktivitas yang baik, sifat katalitik dan memiliki aktivitas anti bakteri (Frattini, *et al.*, 2005).

Perak dalam bentuk garam biasanya sebagai $AgNO_3$. Perak nitrat atau $AgNO_3$ memiliki pH 6-7, titik didih 440°C, berat molekul 169,87 g/mol, tidak

berwarna atau berwarna putih, kelarutannya larut di dalam air dan dietil eter, dan tidak bersifat korosif (ScienceLab, 2013).

2.6 Nanopartikel Perak (NPP)

2.6.1 Definisi NPP

Nanopartikel dapat didefinisikan sebagai objek yang berukuran 1-100 nm. Nanopartikel memiliki banyak kegunaan antara lain sebagai detektor, katalis, zat pelapis permukaan, anti bakteri (Ristian, 2013) hingga penggunaannya secara luas yaitu seperti bahan kosmetik dan pakaian (Hasan, 2015). Penelitian yang telah dilakukan dalam rangka aplikasi nanoteknologi untuk menghasilkan produk nanopartikel diantaranya melalui rekayasa partikel logam dan oksida logam seperti perak (Ag), tembaga (Cu), TiO_2 , ZnO, dan MgO berukuran dalam skala nanometer untuk kemudian diaplikasikan pada proses berbagai produk lain seperti tekstil, pulp, keramik dan sebagainya. Diantara logam-logam tersebut, perak merupakan logam yang umum digunakan, karena sifatnya yang tidak toksik terhadap kulit manusia (Wahyudi dkk., 2011).

Nanopartikel memiliki banyak kelebihan, beberapa diantaranya adalah, sebagai sistem penghantaran obat yang lebih efektif, pengembangan material yang lebih ringan dan lebih kuat menggunakan komposit, serta pengembangan metode-metode perbaikan atau remedial dalam bidang makanan, air dan lingkungan (Riwayati, 2017). Penelitian yang telah dilakukan oleh Sonia (2012), membuktikan bahwa nanopartikel perak dapat mendeteksi ion-ion logam berat, seperti Pb, Cd, Zn, Co, Cu, Fe, dan Hg. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Rusnaenah dkk

(2017) membuktikan bahwa NPP hasil biosintesis dari daun ketapang dan modifikasi dengan asam p-kumarat dapat digunakan untuk mendeteksi melamin.

2.6.2 Sintesis NPP

Sintesis nanopartikel bisa dilakukan dengan berbagai metode, yaitu secara reduksi kimia, elektrokimia, fotokimia, sonokimia, dan *ultrasonic irradiation* (Ristian, 2013). Akan tetapi cara yang sangat populer karena alasan faktor kemudahan, biaya yang relatif murah serta kemungkinannya untuk diproduksi dalam skala besar adalah dengan cara reduksi kimia (Wahyudi dkk., 2011).

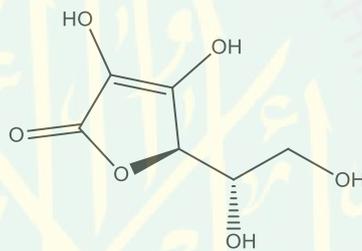
Metode ini menggunakan proses reaksi reduksi pada garam-garam perak seperti perak nitrat, perak sulfat, perak perklorat, dan garam-garam yang mengandung perak lainnya. Zat-zat lain yang digunakan untuk pembuatan nanopartikel perak yaitu stabilisator, zat pengikat, zat pereduksi, aquades, dan katalis untuk mempercepat reaksi (Chou *and* Lu, 2008 dalam Ristian, 2013).

Terbentuknya nanopartikel perak secara visual ditandai dengan terjadinya perubahan warna dari bening menjadi kuning hingga coklat kehitaman. Terjadinya perubahan warna koloid pada pembentukan nanopartikel perak disebabkan oleh proses oksidasi reduksi. Semakin pekat warna yang dihasilkan menunjukkan semakin banyak senyawa organik yang teroksidasi dan semakin banyak pula Ag^+ yang mengalami reduksi menjadi Ag^0 , semakin meningkat konsentrasi nanopartikel perak yang terbentuk (Haryani dkk., 2016).

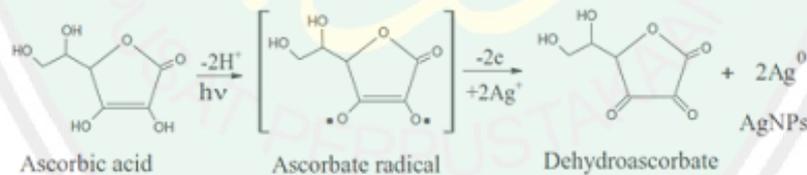
2.6.3 Mekanisme Sintesis NPP

Biosintesis NPP tersebut terjadi karena di dalam ekstrak buah kersen terdapat senyawa anti oksidan sebagai bioreduktor seperti vitamin C sebesar 90 mg

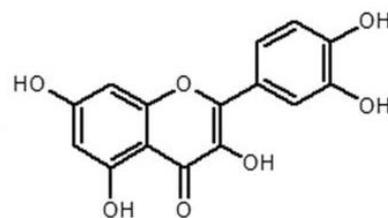
per 100 gram (Rahman dkk., 2010 dalam Sari^b, 2017) dan flavonoid sebesar 0,98 mg/g (Chen *et al.*, 2017). Dugaan kuat bahwa vitamin C dan flavonoid yang terkandung yang menjadi bioreduktor karena senyawa tersebut memiliki gugus -OH yang mampu untuk mendonorkan proton. Jika dilihat dari data potensial reduksi, dari Ag^+ sebesar +0,80 V, maka vitamin C dan flavonoid dapat mereduksi ion Ag^+ . Hal ini dikarenakan potensial reduksi vitamin C dan flavonoid di bawah potensial reduksi dari Ag^+ yaitu +0,35 V dan +0,33 V sehingga akan dapat mereduksi ion Ag^+ menjadi Ag^0 yang merupakan NPP (Sari^b dkk., 2017).



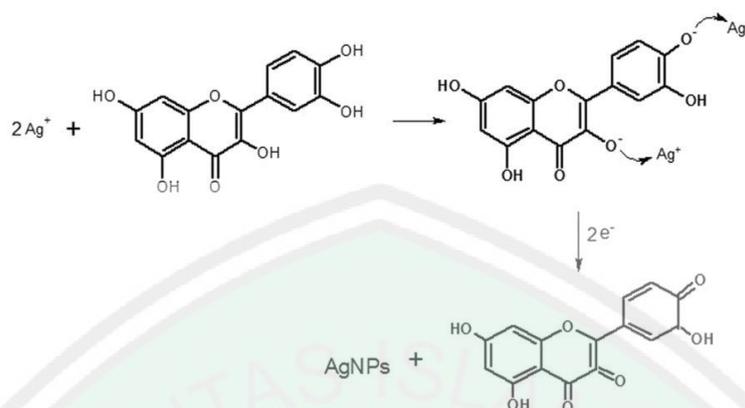
Gambar 2.4 Struktur Vitamin C (Chemdraw Application)



Gambar 2.5 Mekanisme Reaksi Pembentukan NPP dengan Bantuan Sinar Matahari dan Bioreduktor Vitamin C (Sari^b dkk., 2017)



Gambar 2.6 Struktur Flavonoid (Jain and Mehata, 2017)



Gambar 2.7 Mekanisme Reaksi Pembentukan NPP dan Bioreduktor Flavonoid (Jain *and* Mehata, 2017)

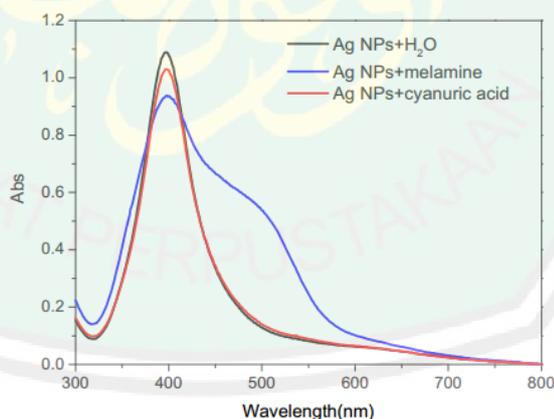
Nanopartikel perak (NPP) dapat disintesis dari tumbuhan kersen, yaitu pada bagian buah. Sari^b dkk (2017) membuktikan bahwa NPP hasil reduksi ekstrak aquades buah kersen dapat digunakan untuk mendeteksi logam merkuri dengan kadar minimal 16,7 ppb dengan keakuratan metode 99,4%. Terbentuknya NPP menggunakan ekstrak buah kersen ini dikarenakan adanya flavonoid dan vitamin C yang terkandung di dalamnya. Tumbuhan ini mudah untuk didapatkan karena tersedia di lingkungan sekitar, ramah lingkungan, serta untuk meminimalisir penggunaan bahan-bahan yang berbahaya.

2.6.4 Mekanisme Deteksi Melamin

Molekul melamin adalah molekul sederhana yang terdapat tiga gugus amino eksosiklik ($-\text{NH}_2$) dan tiga cincin nitrogen hibrida endosiklik yang dapat beraksi sebagai reagen nukleofilik (Alam *et al*, 2017). Melamin juga mempunyai kemampuan untuk berikatan hidrogen dan dapat berinteraksi dengan gugus karboksil dan hidroksil fenolik (Saha *et al*, 2009, dalam Alam *et al*, 2017). Ketika melamin ditambahkan dalam larutan nanopartikel perak yang terdispersi, gugus

amino dari melamin mungkin dapat berinteraksi melalui ikatan hidrogen dengan gugus $-\text{COO}^-$ pada permukaan NPP. Oleh karena itu, NPP yang terdispersi mulai beragregasi dan mengalami perubahan warna (Alam *et al*, 2017).

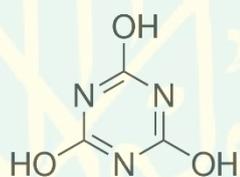
Nanopartikel perak dapat menjadi stabil dalam larutan dengan pelapisan ion-ion yang bermuatan negatif seperti ion sitrat (Pinto *et al*, 2010 dalam Ping *et al*, 2012) dan gaya elektrostatis menetralkan efek Van Der Waals antar molekul, dengan hasil homodispersi NPP. Ion sitrat bermuatan negatif dapat menempel satu sama lain dengan gugus amino eksosiklik bermuatan positif ($-\text{NH}_2$), dengan hasil bahwa molekul melamin melekat pada permukaan NPP (Ping *et al*, 2012). Pada penelitian yang dilakukan oleh Ping *et al* (2012), ketika melamin ditambahkan ke dalam larutan NPP, NPP akan teragregasi. Secara bersamaan, warna larutan NPP berubah dengan variasi spektra pada gambar 2.8.



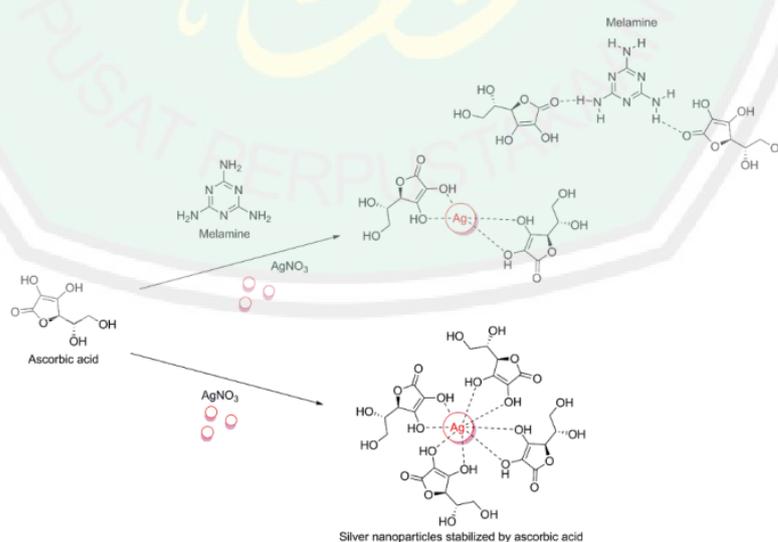
Gambar 2.8 Panjang Gelombang NPP, NPP ditambah Melamin, NPP Ditambah Asam Sianurat (Ping *et al*, 2012)

Agregasi NPP kemungkinan diinduksi oleh tiga gugus amino eksosiklik ($-\text{NH}_2$) atau oleh tiga cincin nitrogen hibrida. Penelitian yang dilakukan oleh Ping *et al*. (2012) membuktikan alasan terjadinya agregasi pada NPP dengan

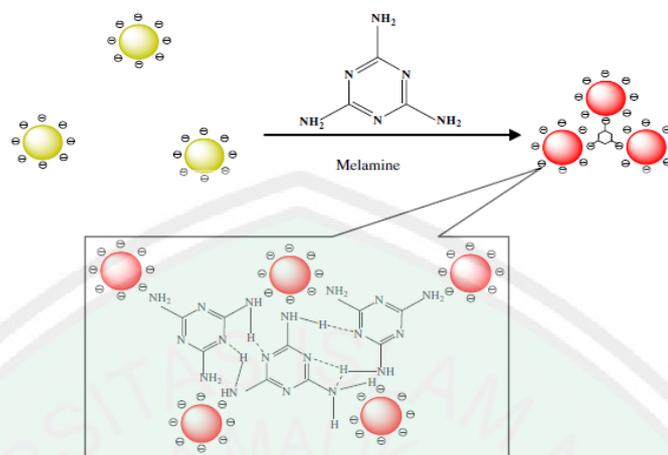
menggunakan asam sianurat sebagai pengganti dari melamin. Pada struktur molekul asam sianurat, tiga gugus hidroksi (-OH) menggantikan tiga gugus amino (-NH₂) dari melamin, dan tiga cincin nitrogen hibrida tetap ada. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa asam sianurat tidak menginduksi terjadinya agregasi pada NPP. Hal ini jelas bahwa hanya tiga gugus amino melamin menjadi kunci untuk interaksi antara melamin dan NPP. Tiga gugus amino menjadi penyebab terjadinya perubahan warna dari kuning menjadi merah, sedangkan tiga nitrogen cincin hibrida tidak bertanggung jawab terhadap interaksi antara melamin dengan NPP. Di sisi lain, setiap melamin memiliki enam sisi yang ekuivalen membentuk ikatan hidrogen NH-N dengan sisi yang serupa dari molekul lain.



Gambar 2.9 Struktur Asam Sianurat (Sigmaaldrich, 2018)



Gambar 2.10 Mekanisme Deteksi Melamin (Varun *et al.*, 2016)



Gambar 2.11 Skema Representasi Mekanisme NPP untuk Deteksi Melamin Secara Kolorimetri (Ping *et al.*, 2012)

Menurut Ping *et al* (2012), sesama melamin yang dilapisi NPP bisa dihubungkan dengan NH. Ikatan N hidrogen antara molekul melamin seperti pada gambar 2.11. Dengan demikian, agregasi NPP dapat terinduksi.

2.7 Kolorimetri

Metode kolorimetri merupakan metode yang berdasarkan penyerapan sinar tampak oleh suatu larutan berwarna. Dalam metode kolorimetri, sinyal target yang terjadi melalui perubahan warna dalam medium reaksi (Kim *et al.*, 2001). Prinsip dari indikator kolorimetri berdasarkan pada sifat unik dari SPR (*Surface Plasmon Resonance*) suatu nanopartikel dan kemampuannya beragregasi (saling berikatan). SPR adalah suatu fenomena interaksi NPP untuk menyerap dan menyebarkan sinar dengan panjang gelombang yang spesifik (Singh *et al.*, 2013).

2.8 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah alat untuk analisa unsur-unsur berkadar rendah secara kualitatif berdasarkan puncak-puncak yang dihasilkan dari senyawa kompleks unsur yang dianalisa dengan pengompleks yang sesuai (Yanlinastuti dkk., 2011). Prinsip kerja UV-Vis yaitu, ketika cahaya dengan berbagai panjang gelombang (cahaya polikromatis) mengenai suatu molekul, maka cahaya dengan panjang gelombang tertentu saja yang akan diserap. Jika molekul menyerap cahaya tampak dan UV maka akan terjadi perpindahan elektron dari keadaan dasar menuju kekeadaan tereksitasi. Perpindahan elektron ini disebut transisi elektronik. Apabila cahaya yang diserap adalah cahaya inframerah maka elektron yang ada dalam atom atau elektron ikatan pada suatu molekul hanya akan bergetar (vibrasi), sedangkan gerakan berputar elektron terjadi pada energi yang lebih rendah lagi (Neldawati dan Gusnadi, 2013).

Cahaya yang diserap diukur sebagai absorbansi (A) sedangkan cahaya yang dihamburkan diukur sebagai transmitansi (T), dinyatakan dengan hukum Lambert-Beer yang berbunyi *“jumlah radiasi cahaya tampak (ultraviolet, inframerah dan sebagainya) yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat dan tebal larutan”*. Hukum Lambert-Beer menunjukkan hubungan lurus antara absorbansi dan kadar analit (Neldawati dan Gusnadi, 2013).

Rumus hukum Lambert-Beer:

$$A = \epsilon b c$$

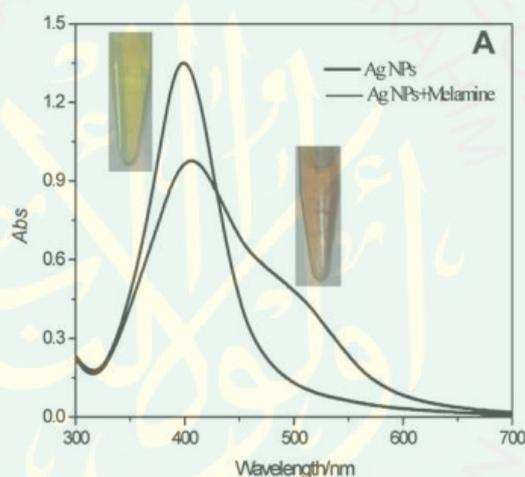
Keterangan: A = absorbansi

ϵ = absorbtivitas molar

b = jarak tempuh optik

c = konsentrasi

Karakteristik Nanopartikel perak yang telah terbentuk ditandai dengan adanya puncak serapan khas pada panjang gelombang maksimal 400-442 nm (Salasa dkk., 2016) dan dengan adanya penambahan melamin, panjang gelombang akan bergeser menjadi sekitar 500 nm (Ping *et al.*, 2012).



Gambar 2.12 Panjang Gelombang Nanopartikel Perak dan Penambahan Melamin

2.9 Particle Size Analyzer (PSA)

Karakterisasi menggunakan PSA digunakan untuk menentukan ukuran rata-rata NPP. PSA menggunakan metode *Dinamyc Light Scattering* (DLS) yang memanfaatkan hamburan inframerah. Hamburan inframerah ditembakkan oleh alat ke sampel sehingga sampel akan bereaksi menghasilkan gerak *Brown* (gerak acak dari partikel yang sangat kecil dalam cairan akibat dari benturan dengan molekul-

molekul yang ada dalam zat cair). Gerak inilah yang kemudian dianalisis oleh alat, semakin kecil ukuran molekul maka akan semakin cepat gerakannya.

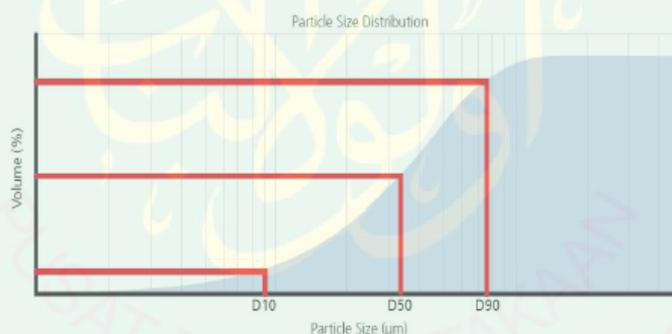
Analisa distribusi ukuran pada partikel berdasarkan pada ukuran maksimum yang dihasilkan dalam persentase volume sampel tertentu. Persentase dirumuskan sebagai XaB , dengan keterangan sebagai berikut:

X = parameter, biasanya D untuk diameter

a = distribusi, misalnya untuk jumlah, v untuk volume, i untuk intensitas

B = persentase sampel

Sebagai contoh, $Dv50$ digunakan untuk melihat diameter maksimum yang terdapat dalam 50% volume sampel.



Gambar 2.13 Contoh Persentase Distribusi Ukuran Partikel (Malvern Instrumen Limited, 2012)

Gambar 2.13 menjelaskan distribusi ukuran partikel $Dv10$, $Dv50$ dan $Dv90$ yang menunjukkan ukuran maksimum pada sampel dalam persentase volume 10%, 50% dan 90% (Malvern Instrumen Limited, 2012).

2.10 Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis bertujuan untuk memastikan dan mengkonfirmasi bahwa metode analisis tersebut sudah sesuai untuk peruntukannya. Validasi

biasanya diperuntukkan untuk metode analisa yang baru dibuat dan dikembangkan (Riyanto, 2014).

2.10.1 Linearitas

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Linearitas biasanya dinyatakan dalam istilah variasi sekitar arah garis regresi yang dihitung berdasarkan persamaan matematika data yang diperoleh dari hasil uji analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit. Perlakuan matematik dalam pengujian linearitas adalah melalui persamaan garis lurus dengan metode kuadrat terkecil antara hasil analisis terhadap konsentrasi analit. Parameter hubungan kelinearan yang digunakan yaitu koefisien korelasi (r) dan koefisien determinasi (R) pada analisis regresi linier $y = bx + a$ (b adalah *slope* (kemiringan); a adalah intersep; x adalah konsentrasi analit dan y adalah respon instrumen atau absorbansi). Uji ini dilakukan untuk mengukur kemampuan standar dalam mendeteksi analit dalam sampel (Riyanto, 2014). Linearitas metode dapat menggambarkan ketelitian pengerjaan analisis suatu metode yang ditunjukkan oleh nilai koefisien determinasi sebesar $>0,997$ (Chan, 2004 dalam Riyanto, 2014).

2.10.2 LOD dan LOQ

Limit of Detection (LOD) adalah jumlah terkecil dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. *Limit of Quantitation* (LOQ) adalah kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Riyanto, 2014).

2.10.3 Akurasi

Akurasi adalah ukuran perbedaan antara harapan hasil tes dan nilai referensi yang diterima karena metode sistematis dan kesalahan laboratorium. Akurasi ditentukan dengan menggunakan metode referensi, studi kolaboratif, atau perbandingan dengan metode lain. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (% *recovery*). Persen perolehan kembali dinyatakan sebagai rasio antara hasil yang diperoleh dengan hasil yang sebenarnya (Riyanto, 2014).

Tabel 2.2 Nilai % *Recovery* Berdasarkan Nilai Konsentrasi Sampel (Harmita, 2004)

No.	Analit pada Matriks Sampel	<i>Recovery</i> yang Diterima (%)
1	$10 < A \leq 100$ (%)	98-102
2	$1 < A \leq 10$ (%)	97-103
3	$0,1 < A \leq 1$ (%)	95-105
4	$0,001 < A \leq 0,1$ (%)	90-107
5	$100 \text{ ppb} < A \leq 1 \text{ ppm}$	80-110
6	$10 \text{ ppb} < A \leq 100 \text{ ppb}$	60-115
7	$1 \text{ ppb} < A \leq 10 \text{ ppb}$	40-120

2.10.4 Presisi

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (RSD atau *Relative Standard Deviation*). Presisi dapat dinyatakan sebagai keterulangan. Keterulangan adalah keseksamaan metode jika dilakukan berulang kali oleh analis yang sama pada kondisi sama dan dalam interval waktu yang pendek. Kriteria

presisi diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi ($KV \leq 2\%$) (Riyanto, 2014).

Tabel 2.3 Tingkat Presisi Berdasarkan Konsentrasi Analit (Riyanto, 2014)

No.	Jumlah Komponen Terukur dalam Sampel (x)	Tingkat Presisi
1	$x \geq 10\%$	$\leq 2\%$
2	$1\% \leq x \leq 10\%$	$\leq 2\%$
3	$0,1\% \leq x \leq 1\%$	$\leq 10\%$
4	$x \leq 0,1\%$	$\leq 20\%$

2.11 Buah Kersen sebagai Rezeki dalam Perspektif Islam

Buah kersen dapat dimanfaatkan oleh umat manusia. Berdasarkan Surat Al Baqarah ayat 22:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ فِرَاشًا وَالسَّمَاءَ بِنَاءً وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجَ بِهِ مِنَ الثَّمَرَاتِ رِزْقًا لَكُمْ فَلَا تَجْعَلُوا لِلَّهِ أَنْدَادًا وَأَنْتُمْ تَعْلَمُونَ ﴿٢٢﴾

Artinya: “Dialah yang menjadikan bumi sebagai hamparan bagimu dan langit sebagai atap, dan Dia menurunkan air (hujan) dari langit, lalu Dia menghasilkan dengan hujan itu segala buah-buahan sebagai rezki untukmu; karena itu janganlah kamu mengadakan sekutu-sekutu bagi Allah, Padahal kamu mengetahui.”

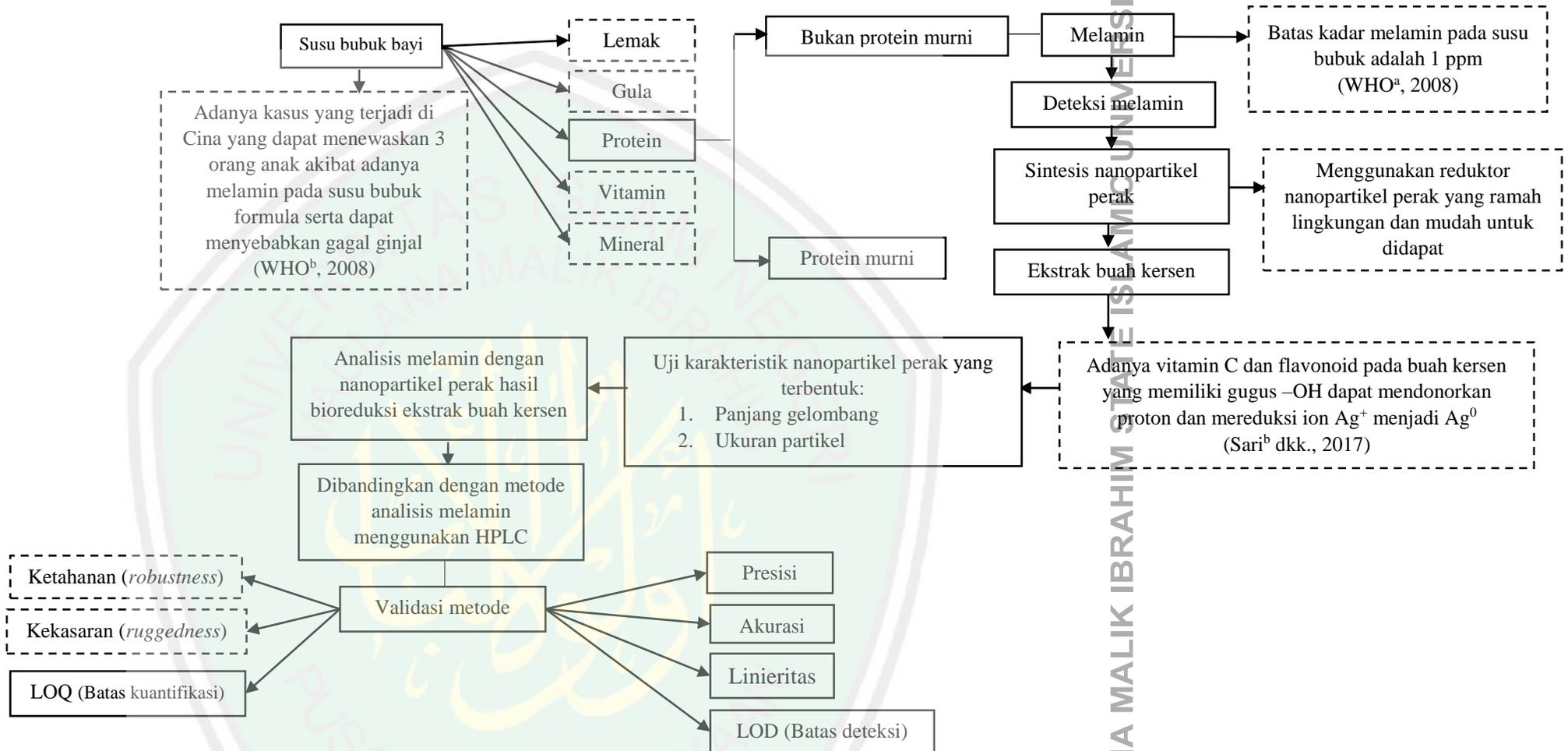
Dari ayat tersebut dapat diketahui bahwa segala sesuatu yang Allah ciptakan di muka bumi ini merupakan rezeki terhadap hambaNya. Rezeki dalam Kamus Bahasa Indonesia diartikan dengan segala sesuatu yang dipakai untuk memelihara kehidupan yang diberikan Tuhan, dapat berupa makanan sehari-hari, nafkah, pendapatan, keuntungan dan sebagainya (KBBI, 1989).

Dalam kitab tafsir al-Azhar, Hamka mendefinisikan kata rezeki sebagai pemberian atau karunia yang diberikan Tuhan kepada makhlukNya, untuk dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari. Sumber rezeki menurut Hamka ialah

hanya Allah semata, karena semua berasal dari Allah, oleh karena itu, manusia harus meminta dan menyembah hanya kepadaNya. Selain itu manusia juga diperingatkan untuk selalu mensyukuri segala pemberian dan rezeki dari Allah. Kemudian Hamka membagi rezeki kedalam dua kategori, yaitu material dan non material. Rezeki yang termasuk material ialah, makanan, hewan ternak, kebun-kebun, air hujan yang turun dari langit serta bumi dan seisinya. Rezeki yang termasuk non material ialah, risalah kenabian, ampunan dan segala kebaikan serta rezeki yang mulia (surga). Hamka menjelaskan bahwasanya Allah telah menyediakan bumi dan seisinya untuk dimanfaatkan oleh manusia. Seperti kebun-kebun dan sawah-sawah bisa diolah dan diambil hasilnya tiap tahun untuk dimakan dan dimanfaatkan untuk kebutuhan manusia (Hamka, 1983).

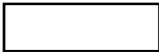
BAB III
KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Bagan Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konseptual

Keterangan:

-  : Diteliti
 : Tidak diteliti
 : Berkaitan
 : Variabel yang diteliti

3.2 Uraian Kerangka Konseptual

Adanya melamin pada susu bubuk bayi dapat menyebabkan gagal ginjal, dan bahkan meninggal dunia. Hal ini terjadi di Cina yang menewaskan 3 orang anak dan beberapa lainnya masuk rumah sakit akibat gagal ginjal (WHO^b, 2008). Melamin adalah senyawa organik yang paling banyak didapatkan dalam bentuk kristal, mengandung nitrogen (66% massa) dan biasa digunakan untuk produk non-pangan, apabila melamin terdapat dalam makanan maka akan dapat membahayakan kesehatan manusia (MenKes, 2012). Penambahan melamin pada susu ditujukan untuk meningkatkan kadar nitrogen yang tinggi (66% massa) sehingga pada saat susu diperiksa seolah-olah susu tersebut mempunyai kandungan protein yang tinggi, karena secara umum kandungan protein ditetapkan dengan cara menentukan kandungan nitrogennya (metode Kjeldahl) (Sun *et al.*, 2010).

Melamin pada sampel susu bubuk bayi dapat dideteksi dengan nanopartikel perak. Nanopartikel perak dapat disintesis dari reduktor senyawa kimia dan reduktor alam. Penelitian yang dilakukan oleh Rusnaenah dkk (2017) membuktikan bahwa nanopartikel dengan reduktor daun ketapang dapat digunakan untuk mendeteksi melamin. Pada penelitian ini digunakan nanopartikel dengan

menggunakan bioreduktor ekstrak buah kersen. Setelah nanopartikel tersebut berhasil dibuat, kemudian dikarakterisasi panjang gelombang dan ukuran yang terbentuk.

Beberapa metode seperti elektroforesis kapiler, *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS), *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS) dan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) telah dikembangkan dan digunakan untuk mendeteksi kandungan melamin. Meskipun masing-masing metode ini memiliki sensitivitas tinggi, namun membutuhkan waktu yang lama, dan instrumentasi yang relatif mahal (Kumar dkk., 2016). Penelitian yang telah dilakukan oleh Lestari dkk (2011) telah membuktikan bahwa HPLC dapat digunakan untuk analisis melamin, dengan menunjukkan nilai parameter validasi metode linearitas sebesar 0,9988, LOD dan LOQ masing-masing sebesar 0,5194 ppm dan 1,7316 ppm, nilai presisi dengan koefisien variasi 4,263%, dan nilai akurasi dengan % *recovery* 103,60% pada 4 ppm, 65,81% pada 6 ppm, dan 125,28% pada 8 ppm.

Deteksi melamin pada susu bubuk bayi menggunakan nanopartikel perak hasil bioreduktor ekstrak buah kersen dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis, dimana UV-Vis digunakan untuk mengetahui panjang gelombang dan absorbansi dari pengaplikasian NPP dan sampel. Penelitian sebelumnya belum ada yang membuktikan bahwa NPP yang disintesis dari ekstrak buah kersen dapat digunakan untuk mendeteksi melamin dalam sampel susu bubuk bayi. Oleh karena itu, metode yang digunakan pada penelitian ini perlu dilakukan validasi metode analisis untuk

menjamin bahwa metode yang digunakan memenuhi persyaratan untuk penggunaannya.

3.3 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah:

1. Karakteristik nanopartikel perak hasil sintesis menggunakan bioreduktor ekstrak buah kersen adalah memiliki panjang gelombang sekitar 400-450 nm dan memiliki ukuran sekitar 1-100 nm.
2. Nilai tiap parameter metode analisis melamin dengan nanopartikel perak menggunakan bioreduktor ekstrak buah kersen memenuhi persyaratan uji LOD, LOQ, linearitas, akurasi, dan presisi.
3. Metode nanopartikel perak menggunakan bioreduktor ekstrak buah kersen memiliki nilai parameter yang lebih baik dibandingkan dengan metode analisis melamin menggunakan HPLC yang telah tervalidasi.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan penelitian *pra experimental* dimana dirancang dengan adanya perlakuan pembanding. Perlakuan pembanding pada penelitian ini adalah sampel yang diteliti dengan menggunakan metode yang telah diketahui nilai parameter validasinya untuk analisis melamin, yaitu dengan HPLC. Kemudian metode NPP hasil bioreduksi ekstrak buah kersen dibandingkan dengan metode yang tervalidasi. Setelah itu, metode analisis melamin dengan NPP hasil bioreduksi ekstrak buah kersen divalidasi untuk melihat nilai parameter metode validasi dari metode tersebut, serta dibandingkan untuk mengetahui metode yang lebih baik.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dimulai pada April 2018 di Laboratorium Kimia Analisis Jurusan Farmasi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

4.3 Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah susu bubuk bayi untuk usia 0-1 tahun dengan jumlah 29 populasi. Sedangkan yang menjadi sampel adalah susu bubuk untuk bayi yang mengandung protein paling tinggi dibandingkan susu bubuk bayi lainnya (dengan kadar protein > 12 g/100 g susu). Teknik pengambilan sampel yang

digunakan adalah teknik *non random sampling* dengan jenis *purposive sampling*. Teknik *purposive sampling* adalah teknik pengambilan sampel dengan tidak berdasarkan random, daerah atau strata, melainkan berdasarkan atas adanya pertimbangan yang berfokus pada tujuan tertentu.

4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.4.1 Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel terikat (Aditya, 2008). Variabel bebas pada penelitian ini adalah validasi metode (linearitas, LOD & LOQ, akurasi dan presisi) analisis melamin menggunakan nanopartikel perak hasil bioreduksi ekstrak buah kersen.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas (Aditya, 2008). Variabel terikat pada penelitian ini adalah nilai parameter validasi metode (linearitas, LOD & LOQ, akurasi dan presisi) analisis melamin nanopartikel perak hasil bioreduksi ekstrak buah kersen.

c. Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah buah kersen yang telah matang dan segar, pelarut yang digunakan adalah aquades, konsentrasi

AgNO_3 sebagai prekursor NPP adalah 1 mM, analisis kadar melamin dengan NPP menggunakan UV-Vis.

4.4.2 Definisi Operasional

- a. Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Rachmawati dan Widiyanti, 2013).
- b. Nilai parameter validasi metode adalah nilai yang didapatkan atau diperoleh dari proses validasi suatu metode pada beberapa parameter validasi metode seperti linearitas, LOD, LOQ, akurasi, dan presisi untuk kemudian dihitung berdasarkan rumus pada masing-masing parameter.
- c. Ekstrak aquades buah kersen adalah suatu senyawa yang diperoleh dari proses pemisahan atau ekstraksi pada buah kersen dengan menggunakan pelarut aquades.
- d. Aquades adalah suatu larutan yang diproses dengan satu kali penyulingan. Pelarut aquades digunakan karena menurut (Patra *et al.*, 2017), ekstrak bunga kersen dengan pelarut aquades dapat berfungsi sebagai reduktor, agen molekul pelapis, dan agen stabilisasi.
- e. Nanopartikel perak (NPP) adalah suatu partikel yang berukuran antara 1-100 nm, yang dibuat dari bahan awal AgNO_3 , serta diturunkan bilangan oksidasinya dengan sebuah reduktor.

- f. Reduktor adalah suatu unsur atau senyawa yang mengalami oksidasi atau kehilangan atau mendonorkan elektron kepada spesies kimia lainnya dalam suatu reaksi kimia reduksi-oksidasi. Zat yang merupakan reduktor ditandai dengan zat tersebut melepas elektron, mengikat oksigen, dan mengalami kenaikan bilangan oksidasi.
- g. Deteksi melamin pada sampel susu bubuk bayi dengan NPP ekstrak aquades buah kersen menggunakan metode kolorimetri. Metode kolorimetri adalah suatu metode analisis kimia yang didasarkan pada perubahan warna yang terjadi.
- h. Analisis kadar melamin yang mampu terdeteksi menggunakan NPP hasil bioreduksi ekstrak buah kersen dilakukan dengan instrumen UV-Vis, setelah itu didapatkan nilai absorbansi yang terserap untuk kemudian diimplementasikan ke dalam regresi linier larutan baku melamin. Sehingga didapatkan konsentrasi melamin dalam sampel.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitik (*Precisa XB Seri*), labu ukur (*Pyrex*), gelas kimia (*Pyrex*), erlenmeyer (*Pyrex*), botol vial, botol semprot, gelas ukur (*Pyrex*), *hot plate* (*Scilogex MS-H-Pro Plus*), *magnetic stirrer* (*Scilogex Magnetic Stirring Bar PTFE*), corong (*Herma*), pipet volume (*Iwaki*), bola hisap (*Brixco*), pipet mikro (*Basic Pette*), pipet tetes (*One Med*), tisu, kaca arloji, tabung sentrifus (*Polypropylene PP Centrifuge Tube Vial*), sentrifus (*LMC-*

4200R Benchtop Centrifuge), pH meter (HM Digital), vorteks (BM Labosis), *Ultrasound Assisted Extraction*, perlengkapan alat analisis: spektrofotometer *Ultra Violet Visible (UV-Vis) 2100 Series (Shimadzu)*, *Particle Size Analyzer* atau PSA (*Microtrac*), dan HPLC atau *High Performance Liquid Chromatography (Termo)*.

4.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah buah kersen (*Muntingia calabura L.*), AgNO_3 , asetonitril, melamin standar, sampel susu bubuk bayi, asam trikloro asetat, metanol, aquades, aquabides, dan kertas saring.

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Metode Nanopartikel Perak dengan Bioreduktor Ekstrak Buah Kersen

4.6.1.1 Ekstraksi Buah Kersen (Sari^b dkk., 2017)

Kersen yang akan dipreparasi dipilih yang telah masak atau berwarna merah dan segar (Farida, 2009). Kemudian dicuci dan ditimbang sebanyak 20 g. Selanjutnya dimasukkan ke dalam gelas kimia 150 mL dan ditambahkan dengan aquades sebanyak 100 mL dan dipanaskan selama 15 menit pada suhu 80°C. Lalu, disaring dan ditutup dengan alumunium foil, untuk kemudian dilihat panjang gelombang.

4.6.1.2 Pembuatan AgNO_3 1 mM

AgNO_3 1 mM dibuat dengan menimbang sebanyak 0,085 g. Kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 500 mL. Setelah itu dihomogenkan dan dilihat panjang gelombangnya menggunakan UV-Vis.

4.6.1.3 Pembuatan NPP dengan Ekstrak Buah Kersen (Sari^b dkk., 2017)

Ekstrak buah kersen yang telah dibuat, kemudian diambil sebanyak 5 mL dan dicampur dengan AgNO₃ 1 mM sebanyak 20 mL secara tetes demi tetes. Kemudian dipanaskan secara tidak langsung dengan panas matahari selama 1 jam.

4.6.1.4 Karakterisasi Larutan Nanopartikel Perak

Nanopartikel perak yang terbentuk diambil sebanyak 20 mL untuk dikarakterisasi menggunakan UV-Vis dan PSA, untuk mengetahui kestabilan NPP yang terbentuk.

4.6.1.5 Preparasi Sampel Susu Bubuk Bayi (Lestari dkk., 2011)

Preparasi sampel dilakukan dengan memasukkan 1 g serbuk susu ke dalam labu ukur 25 mL, ditambahkan 7,5 mL TCA 1%, serta 2,5 mL asetonitril dan ditambahkan aquades sampai tanda batas. Kemudian larutan tersebut divortex selama 1 menit, diultrasonik selama 30 menit, dikocok selama 10 menit, dan disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Supernatan yang diperoleh dipindahkan ke *beaker glass* dengan melewati kertas saring. Kemudian, larutan supernatan dipipet sebanyak 10 mL dan dimasukkan ke labu ukur 25 mL, setelah itu ditambahkan asetonitril-aquades (50:50) sampai tanda batas. Larutan sampel digunakan untuk direaksikan dengan NPP.

4.6.1.6 Aplikasi Nanopartikel Perak (Octaviana dkk., tanpa tahun)

Larutan sampel susu bubuk bayi (supernatan) dipipet sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 25 mL, kemudian ditambahkan NPP dengan volume 3 mL dan selanjutnya dikocok perlahan. Setelah itu diamati perubahan warna yang terjadi, lalu dilakukan analisis dengan UV-Vis untuk mengetahui nilai

absorbansi dan panjang gelombang. Setelah itu, konsentrasi melamin pada sampel dihitung dengan mengimplementasikan nilai absorbansi dari sampel yang telah dicampurkan dengan NPP, pada persamaan regresi linier yang didapatkan dari larutan standar seri dari poin **4.6.3.1**.

4.6.2 Pembuatan Larutan Standar Melamin

4.6.2.1 Pembuatan Larutan Induk Melamin 100 ppm

Standar melamin ditimbang sebanyak 0,005 g, kemudian dilarutkan dengan metanol-aquades (50:50) dalam labu ukur 50 mL. Setelah itu dihomogenkan.

4.6.2.2 Pembuatan Larutan Melamin 0,25 ppm

Larutan melamin 0,25 ppm didapatkan dari pengenceran larutan melamin 100 ppm. Larutan induk 100 ppm dipipet sebanyak 25 μ L dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian dihomogenkan.

4.6.2.3 Pembuatan Larutan Melamin 1,5 ppm

Larutan melamin 1,5 ppm didapatkan dari pengenceran larutan melamin 100 ppm. Larutan induk 100 ppm dipipet sebanyak 150 μ L dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian dihomogenkan.

4.6.2.4 Pembuatan Larutan Melamin 2 ppm

Larutan melamin 2 ppm didapatkan dari pengenceran larutan melamin 100 ppm. Larutan induk 100 ppm dipipet sebanyak 200 μ L dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian dihomogenkan.

4.6.2.5 Pembuatan Larutan Melamin 2,5 ppm

Larutan melamin 2,5 ppm didapatkan dari pengenceran larutan melamin 100 ppm. Larutan induk 100 ppm dipipet sebanyak 250 μ L dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian dihomogenkan.

4.6.2.6 Pembuatan Larutan Melamin 5 ppm

Larutan melamin 5 ppm didapatkan dari pengenceran larutan melamin 100 ppm. Larutan induk 100 ppm dipipet sebanyak 500 μ L dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian dihomogenkan.

4.6.3 Validasi Metode Analisis Melamin Menggunakan NPP

4.6.3.1 Kurva Baku Standar Melamin

Kurva baku standar melamin didapatkan dari larutan standar seri melamin 0,25; 1.5; 2; 2.5; 5 ppm yang ditambahkan dengan NPP. Sebanyak 2 mL larutan standar seri melamin ditambahkan dengan 3 mL NPP. Setelah itu diletakkan ke dalam UV-Vis untuk didapatkan nilai absorbansi dan didapatkan persamaan regresi linier.

4.6.3.2 Uji Linearitas NPP

Linearitas metode ditentukan dengan cara membuat kurva hubungan antara konsentrasi standar pada sumbu x dan absorbansi pada sumbu y. Linearitas melamin ditetapkan dengan membuat deret standar sebanyak 5 konsentrasi pada rentang 0,25-5 ppm sesuai poin **4.6.3.1** dengan replikasi sebanyak tiga kali. Hubungan antara konsentrasi melamin dengan respon rata-rata diimplementasikan dalam persamaan regresi linier ($y = a + bx$) dan koefisien korelasi (r).

4.6.3.3 Uji LOD dan LOQ NPP

Perhitungan LOD dan LOQ dilakukan dengan menambahkan larutan standar seri 0,25-5 ppm sebanyak 2 mL ke dalam 3 mL NPP (poin 4.6.3.1). Persamaan linier yang diperoleh pada uji linieritas selanjutnya digunakan untuk menghitung LOD dan LOQ. LOD dan LOQ dihitung dari rerata kemiringan garis dan simpangan baku intersep kurva standar yang diperoleh dengan rumus (Baskoro, 2012) :

$$SB = \sqrt{\frac{\sum (y-y_1)^2}{n-2}}$$

$$LOD = \frac{3 \times SB}{slope}$$

$$LOQ = \frac{10 \times SB}{slope}$$

Keterangan: SB = simpangan baku intersep kurva standar

LOD = batas deteksi

LOQ = batas kuantifikasi

4.6.3.4 Uji Presisi NPP

Nilai presisi diwakilkan oleh nilai simpangan baku dan % simpangan baku relatif (% SBR) dari keterulangan masing-masing deret standar melamin yang diukur pada suatu konsentrasi dengan multireplikasi (sebanyak 3 kali pengulangan). Ketelitian diukur dengan menghitung persentase simpangan baku relatif (% SBR) dengan rumus (Baskoro, 2012):

$$SB = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$\text{Simpangan Baku Relatif (SBR) (\%)} = \frac{100 \text{ SB}}{x}$$

Keterangan: x_i = perolehan kembali ulangan ke- i

\bar{x} = rerata perolehan kembali

n = banyaknya ulangan

4.6.3.5 Uji Akurasi NPP

Ketepatan metode ini ditentukan dengan metode penambahan dan dinyatakan sebagai persen temu balik. Temu balik merupakan jumlah standar yang dapat diperoleh kembali setelah ditambahkan ke dalam contoh. Penentuan akurasi NPP dilakukan dengan menambahkan larutan standar 2,5 ppm sebanyak 2 mL ke dalam pengaplikasian sampel dengan NPP seperti pada poin 4.6.1.6. Kadar standar yang terukur dalam sampel menggunakan metode penambahan baku dapat dihitung dengan rumus (Harmita, 2004):

$$C = S \left(\frac{R_1}{R_2 - R_1} \right)$$

Keterangan: C = kadar standar yang terukur dalam sampel

S = kadar standar yang ditambahkan pada sampel

R_1 = respon yang diberikan sampel

R_2 = respon yang diberikan campuran sampel dengan tambahan standar

Perhitungan temu balik dapat juga ditetapkan dengan rumus sebagai berikut

(Harmita, 2004):

$$\%TB = \frac{a-b}{c} \times 100\%$$

Keterangan: a = konsentrasi sampel + konsentrasi standar yang terukur

b = konsentrasi sampel

c = konsentrasi standar teoritis yang ditambahkan

4.6.4 Validasi Metode Analisis Melamin Menggunakan HPLC (Lestari, 2011)

4.6.4.1 Pembuatan Fase Gerak

Fase gerak dibuat dari campuran asetonitril-aquabides dengan perbandingan 50 : 50 (v/v).

4.6.4.2 Pembuatan Larutan Baku Melamin 100 ppm

Melamin baku ditimbang sebanyak 0,01 g dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Kemudian dilarutkan dengan fase gerak sampai batas tanda batas, lalu disonikator hingga larut.

4.6.4.3 Pembuatan Kurva Baku Melamin

Pembuatan larutan kurva baku melamin dibuat dari larutan baku melamin 100 ppm. Dari larutan baku melamin 100 ppm dipipet sebanyak 50 μ L, 200 μ L, 600 μ L, 800 μ L, dan 1000 μ L, masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan dengan fase gerak (asetonitril-aquabides) sampai batas tanda, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 0.5, 2, 6, 8, 10 ppm, kemudian disonikasi selama 15 menit.

Kolom HPLC dijenuhkan dengan fase gerak selama 20 menit. Detektor diatur pada panjang gelombang 240 nm. Kemudian larutan dengan konsentrasi 0.5, 2, 6, 8, dan 10 ppm disuntikkan sebanyak 1 μ L ke dalam *loop injector* HPLC dengan kecepatan alir fase gerak 1 mL/menit. Lalu didapatkan luas puncak pada kromatogram dan dibuat kurva baku serta persamaan regresinya.

4.6.4.4 Uji Linearitas HPLC

Larutan kurva baku melamin 0.5, 2, 6, 8, 10 ppm diinjeksikan pada HPLC. Persamaan regresi linier HPLC menunjukkan hubungan antara konsentrasi

melamin (x) dengan luas area (y), dan diperoleh nilai koefisien korelasi (r) yang menunjukkan bagus atau tidaknya linieritas.

4.6.4.5 Uji LOD dan LOQ HPLC

Uji LOD dan LOQ dilakukan dengan perhitungan secara statistika melalui persamaan garis linier dari kurva baku. Dengan rumus sebagai berikut:

$$SB = \sqrt{\frac{\sum (y-y_1)^2}{n-2}}$$

$$LOD = \frac{3 \times SB}{slope}$$

$$LOQ = \frac{10 \times SB}{slope}$$

Keterangan: SB = simpangan baku intersep kurva standar

LOD = batas deteksi

LOQ = batas kuantifikasi

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik (panjang gelombang dan ukuran) nanopartikel perak yang disintesis menggunakan bioreduktor ekstrak buah kersen, nilai parameter validasi metode (linearitas, LOD, LOQ, presisi dan akurasi) analisis melamin menggunakan nanopartikel perak dengan bioreduktor ekstrak buah kersen, serta perbandingan nilai parameter validasi metode (linearitas, LOD dan LOQ) analisis melamin menggunakan nanopartikel perak hasil bioreduksi ekstrak buah kersen dengan metode analisis melamin menggunakan HPLC yang telah tervalidasi. Penelitian ini dilakukan dalam 6 tahap, yaitu pembuatan nanopartikel perak dengan bioreduktor ekstrak buah kersen, karakterisasi larutan nanopartikel perak, preparasi sampel susu bubuk bayi, aplikasi nanopartikel perak, validasi metode analisis melamin menggunakan UV-Vis, dan validasi metode analisis melamin menggunakan HPLC.

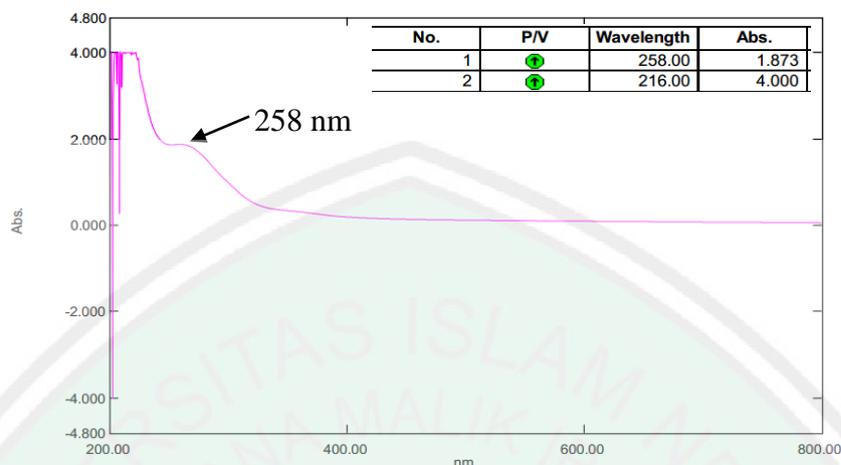
5.1 Analisis Melamin Menggunakan Nanopartikel Perak

5.1.1 Pembuatan Nanopartikel Perak dengan Bioreduktor Ekstrak Buah

Kersen

Tahap awal dalam penelitian ini adalah membuat ekstrak buah kersen (EBK). Buah kersen yang digunakan berwarna merah segar, karena menurut Farida (2009) dan Ningsih dkk (2017), kandungan flavonoid dan vitamin C yang tertinggi terdapat pada buah kersen yang matang dan segar. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah aquades, karena flavonoid dan vitamin C memiliki sifat yang

serupa dengan aquades yaitu polar, sehingga flavonoid dan vitamin C dapat terlarut dalam aquades. Selain itu, Payapo dkk. (tanpa tahun), membuktikan bahwa ekstrak aquades pada daun ketapang lebih baik dalam proses biosintesis nanopartikel perak dibandingkan dengan pelarut lain seperti *n*-heksan, kloroform, dan etil asetat, karena pada pelarut-pelarut tersebut secara kualitatif tidak menunjukkan perubahan warna menjadi kuning hingga kuning kecoklatan dan secara kuantitatif nilai absorbansinya semakin menurun yang menandakan mulai terbentuknya kluster yang lebih besar akibat mulainya beragregasi, kemudian pemanasan dilakukan selama 15 menit pada suhu 80°C, kandungan fenolik pada tumbuhan dapat diekstrak secara optimum pada suhu tersebut tanpa ada kerusakan gugus fenoliknya (Ibrahim, 2015), sedangkan vitamin C dengan pemanasan 80°C mengalami penurunan kadar yang paling signifikan diantara suhu 40°C dan 60°C pada waktu 100 menit (Hok dkk, 2007), sehingga agar kandungan vitamin C tidak mengalami penurunan kadar maka pemanasan dilakukan selama 15 menit. Setelah dilakukan pemanasan, kemudian EBK dibiarkan sampai mencapai suhu ruang. Ekstrak buah kersen yang telah tersaring tersebut dilihat panjang gelombangnya menggunakan UV-Vis. Berdasarkan data UV-Vis, pada EBK terdapat serapan pada 216 nm atau daerah *Ultra Violet* (UV), yaitu pada panjang gelombang 200-400 nm (Gambar 5.1).



Gambar 5.1. Spektra Panjang Gelombang Maksimal Ekstrak Buah Kersen

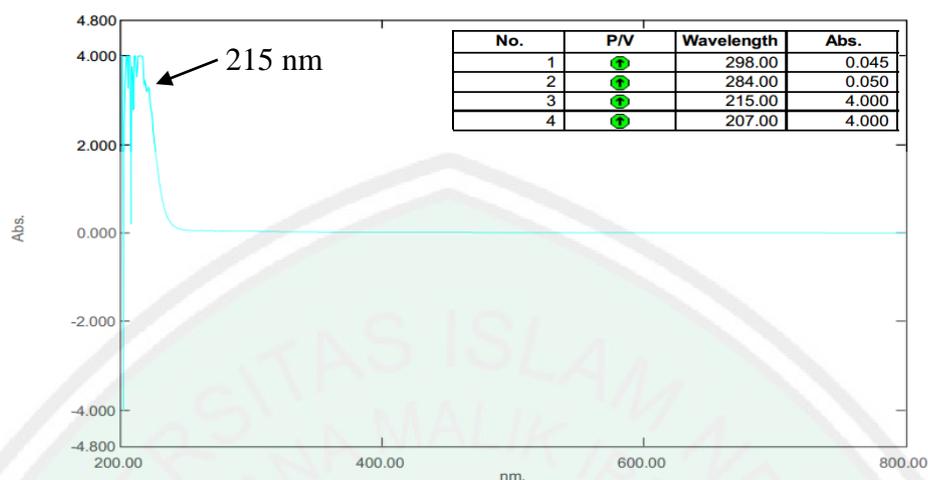
Tabel 5.1 Perbedaan Panjang Gelombang Maksimal Kersen dari Beberapa Literatur

No.	Panjang Gelombang Maksimal (nm)	Literatur
1	258	Hasil penelitian
2	277	Anjani dkk., 2016
3	±300	Novita, 2016
4	209,19	Ferdinal dkk., 2016

Perbedaan panjang gelombang ini diakibatkan berbedanya pelarut yang digunakan. Panjang gelombang khas flavonoid adalah pada rentang 300-560 nm dan 230-285 nm (Novita, 2016). Pada spektrum 277 nm menggunakan pelarut metanol, spektrum tersebut diduga merupakan flavonoid golongan flavanol (Anjani dkk., 2016). Pada spektrum ± 300 nm menggunakan pelarut aquades dengan pemanasan menggunakan panas matahari secara tidak langsung selama 15 menit. Pada spektrum UV-Vis 209,19 nm menggunakan pelarut metanol dan spektrum menunjukkan bahwa tidak adanya ikatan rangkap berkonjugasi karena transisi elektronnya dari $\pi-\pi^*$ (Ferdinal dkk., 2016). Pada penelitian ini muncul dua puncak serapan, yaitu 258 nm dan 216 nm. Serapan pada panjang gelombang 258

nm diduga adanya transisi elektron-elektron yang tidak berikatan ke orbital anti ikatan ($n \rightarrow \pi^*$) oleh suatu gugus C=O. Serapan ini terjadi pada panjang gelombang yang panjang dan intensitasnya rendah (Sastrohamidjojo, 2001; Gafur dkk., tanpa tahun), sedangkan serapan pada panjang gelombang 216 nm diduga adanya transisi elektron $n \rightarrow \sigma$ yang disebabkan oleh suatu aoksokrom yang tidak terkonjugasi yang mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang sekitar 200 nm yang memiliki gugus -OH (Creswell dkk., 2005; Gafur dkk., tanpa tahun).

Langkah selanjutnya yaitu membuat AgNO_3 1 mM sebagai prekursor nanopartikel perak. Menurut Ristian (2013), AgNO_3 dengan konsentrasi 1 mM memiliki kestabilan yang lebih baik dibandingkan dengan AgNO_3 0,5 mM dan 1,5 mM, karena pada pengukuran panjang gelombang, prekursor AgNO_3 1 mM tidak terjadi perubahan yang signifikan hingga periode waktu 7 hari, sehingga larutan NPP hasil sintesis tersebut relatif cukup stabil. Setelah itu, dilihat panjang gelombang AgNO_3 1 mM dengan menggunakan UV-Vis. Menurut penelitian Babaahmadi dkk. (2016), panjang gelombang AgNO_3 1 mM berada pada sekitar 210 nm. Pada penelitian ini, spektrum serapan spektrofotometer UV-Vis pada larutan AgNO_3 1 mM (Gambar 5.2) menunjukkan adanya serapan pada panjang gelombang 215 nm. Larutan AgNO_3 1 mM diukur panjang gelombang maksimal untuk dibandingkan dengan spektra NPP.



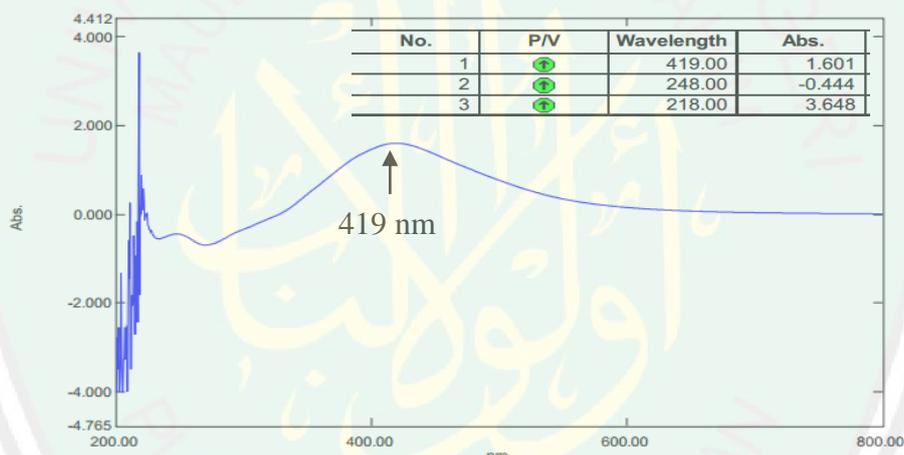
Gambar 5.2 Spektra Panjang Gelombang Maksimal AgNO_3 1 mM

Tabel 5.2 Perbedaan Panjang Gelombang Maksimal AgNO_3 1 mM dari Beberapa Literatur

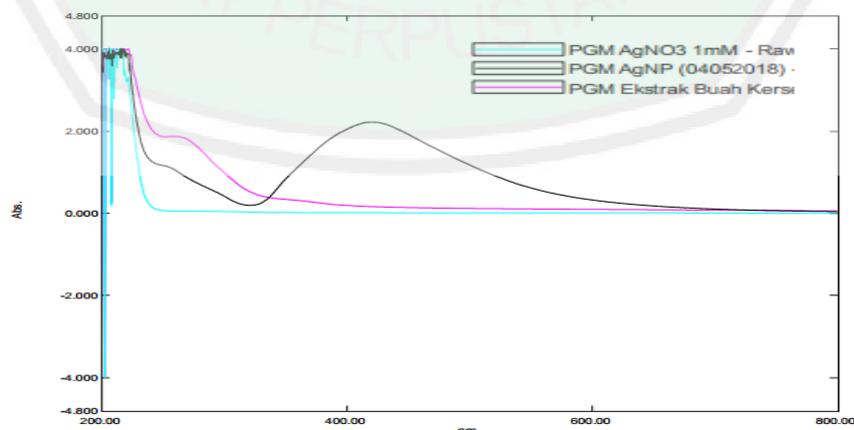
No.	Panjang Gelombang Maksimal (nm)	Literatur
1	215	Hasil penelitian
2	± 200	Selvam <i>et al.</i> , 2016
3	± 220	Phanjom and Ahmed, 2015
4	± 210	Babaahmadi <i>et al.</i> , 2016

Berdasarkan Tabel 5.2 di atas, AgNO_3 1 mM berada pada daerah UV dengan panjang gelombang ± 216 nm, sehingga hasil pada penelitian ini sesuai dengan literatur. Langkah selanjutnya adalah pembuatan nanopartikel perak. Pembuatan ini mengacu pada penelitian Sari^b dkk. (2017), dimana buah kersen yang telah diekstrak diambil sebanyak 5 mL dan dicampurkan dengan 20 mL AgNO_3 1 mM tetes demi tetes, serta dipanaskan secara tidak langsung dengan panas matahari selama 1 jam. Menurut Sari^b dkk. (2017) penyinaran pada biosintesis NPP dilakukan secara tidak langsung untuk menghindari NPP terbentuk pekat, sehingga agar tidak mudah terbentuk agregasi. Pada penelitian ini, NPP yang terbentuk berwarna kuning kecoklatan, hal ini sesuai dengan teori Sari^b dkk. (2017) yang

menyatakan bahwa keberhasilan terbentuknya NPP ditandai dengan adanya perubahan warna dari bening menjadi kuning hingga kuning kecoklatan seiring dengan bertambahnya waktu penyinaran. Terbentuknya NPP tidak hanya ditandai dengan perubahan warna larutan, melainkan juga dengan munculnya puncak absorbansi pada kisaran 400-450 nm (Sari^b dkk., 2017). Hasil spektrum NPP pada penelitian ini menunjukkan adanya puncak absorbansi pada kisaran 400-450 nm, yaitu pada 419 nm (Gambar 5.3). Berdasarkan pengamatan terhadap warna dan spektrum UV-Vis menegaskan bahwa larutan tersebut telah terbentuk NPP.

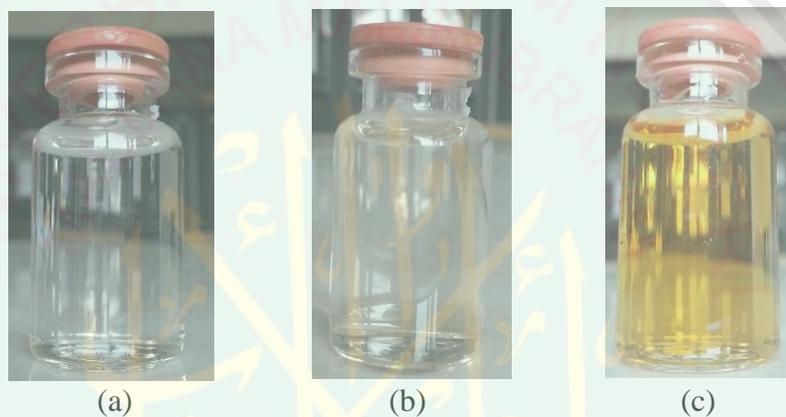


Gambar 5.3 Spektra Panjang Gelombang Maksimal Nanopartikel Perak



Gambar 5.4 Spektra Panjang Gelombang Gabungan AgNO_3 , NPP, dan Ekstrak Buah Kersen

Berdasarkan panjang gelombang AgNO_3 1 mM, NPP, dan ekstrak buah kersen pada Gambar 5.4 di atas, panjang gelombang AgNO_3 1 mM dan EBK berada pada daerah UV karena larutan tersebut tidak berwarna, sedangkan NPP berada pada daerah *Visible*. Pergeseran panjang gelombang tersebut menandakan bahwa terdapat interaksi antara AgNO_3 dan EBK.



Gambar 5.5 (a) AgNO_3 Tidak Berwarna, (b) Ekstrak Buah Kersen Tidak Berwarna, (c) Nanopartikel Perak Berwarna Kuning

Buah kersen dapat digunakan untuk mensintesis nanopartikel perak. Berdasarkan Surat Al-Baqarah ayat 22, dapat diketahui bahwa segala sesuatu yang Allah ciptakan di muka bumi ini merupakan rezeki terhadap hambaNya. Hamka menjelaskan bahwasanya Allah telah menyediakan bumi dan seisinya untuk dimanfaatkan oleh manusia. Seperti kebun-kebun dan sawah-sawah bisa diolah dan diambil hasilnya tiap tahun untuk dimakan dan dimanfaatkan untuk kebutuhan manusia (Hamka, 1983).

Prinsip sintesis nanopartikel perak secara biosintesis ialah memanfaatkan bahan biologis seperti tumbuhan sebagai agen pereduksi. Biosintesis NPP ini terjadi karena di dalam EBK terdapat senyawa anti oksidan sebagai bioreduktor seperti

vitamin C sebesar 90 mg per 100 g (Rahman dkk., 2010) dan flavonoid sebesar 0,98 mg/g (Chen *et al.*, 2017). Dugaan kuat bahwa vitamin C dan flavonoid yang terkandung yang menjadi bioreduktor karena senyawa tersebut memiliki gugus -OH yang mampu untuk mendonorkan proton. Selain itu, jika dilihat dari data potensial reduksi dari Ag^+ sebesar +0,80 V, maka vitamin C dan flavonoid dapat mereduksi ion Ag^+ . Hal ini dikarenakan potensial reduksi vitamin C dan flavonoid di bawah potensial reduksi dari Ag^+ yaitu +0,35 V dan +0,33 V sehingga akan dapat mereduksi ion Ag^+ menjadi Ag^0 yang merupakan NPP (Sari^b dkk., 2017).

5.1.2 Karakterisasi Larutan Nanopartikel Perak

Karakterisasi larutan NPP ini dilakukan untuk mengetahui stabilitas NPP yang terbentuk. Stabilitas NPP ini dapat diketahui dengan melihat panjang gelombang dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan ukuran NPP menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA). Panjang gelombang NPP tiap minggu dapat dilihat pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3 Stabilitas NPP

Minggu ke-	Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
1	419.00	1.601
2	420.50	1.943
3	419.50	2.217
4	421.00	2.378
5	419.00	2.479

Berdasarkan data pada Tabel 5.3, panjang gelombang NPP berada pada kisaran 400-450 nm dan menurut Saputra dkk (2011), sampel hasil sintesis yang terbentuk pada panjang gelombang 400-450 nm merupakan nanopartikel perak

(Ag⁰), sedangkan sampel yang terbentuk pada panjang gelombang 370-400 nm merupakan ion perak (Ag⁺), bentuk Ag⁺ dapat diartikan bahwa proses reduksi kimia belum berjalan dengan sempurna. Panjang gelombang NPP yang terbentuk mengalami perubahan setiap minggu dan nilai absorbansinya semakin meningkat.

Kestabilan NPP hasil sintesis diketahui melalui pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Perubahan panjang gelombang NPP pada tiap minggu mengalami kenaikan dan penurunan. Jika terjadi pergeseran puncak serapan ke panjang gelombang yang lebih besar, menunjukkan bahwa kestabilan NPP masih rendah dikarenakan telah terjadi peristiwa aglomerasi (Wahyudi dkk., 2011), meskipun spektrum NPP ini mengalami kenaikan dan penurunan, akan tetapi masih dalam rentang panjang gelombang terbentuknya nanopartikel perak, yaitu pada 400-450 nm. Nilai absorbansi pada NPP semakin meningkat tiap minggu. Hal ini menandakan terbentuknya nanopartikel perak. Nilai absorbansi larutan berbanding lurus dengan konsentrasi nanopartikel perak dalam larutan. Semakin tinggi nilai absorbansi, maka konsentrasi nanopartikel dalam larutan semakin tinggi (Masakke dkk., 2014).

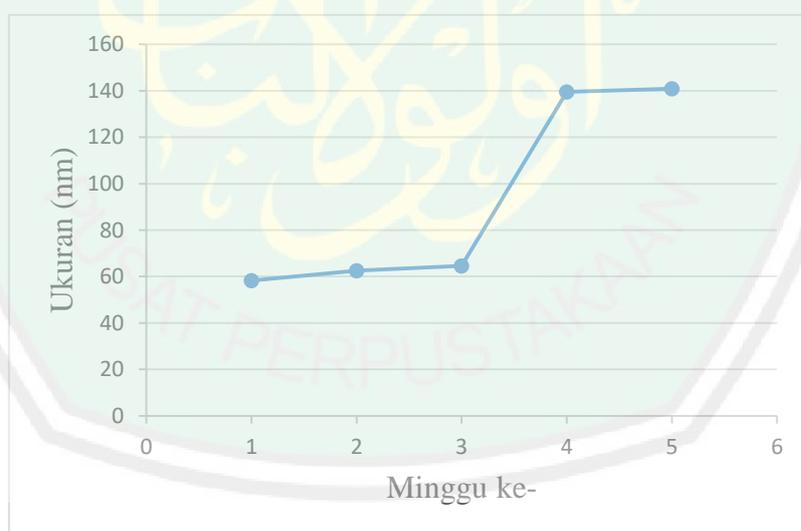
Selain dengan melihat serapan spektra pada spektrofotometer, kestabilan NPP dapat dilihat dari perubahan ukuran menggunakan instrumen PSA (*Particle Size Analyzer*). Prinsip dari pengukuran ukuran NPP menggunakan PSA ini yaitu dengan memanfaatkan hamburan inframerah yang ditembakkan oleh alat ke sampel sehingga sampel akan bereaksi menghasilkan gerak *Brown* (gerak acak dari partikel yang sangat kecil dalam cairan akibat dari benturan dengan molekul-molekul yang ada dalam zat cair). Gerak inilah yang kemudian dianalisis oleh alat, semakin kecil

ukuran molekul maka akan semakin cepat gerakannya (Malvern Instrumen Limited, 2012).

Tabel 5.4 Data Perubahan Ukuran NPP

Minggu ke-	Ukuran (nm)
1	58,30
2	62,50
3	64,60
4	139,65
5	140,90

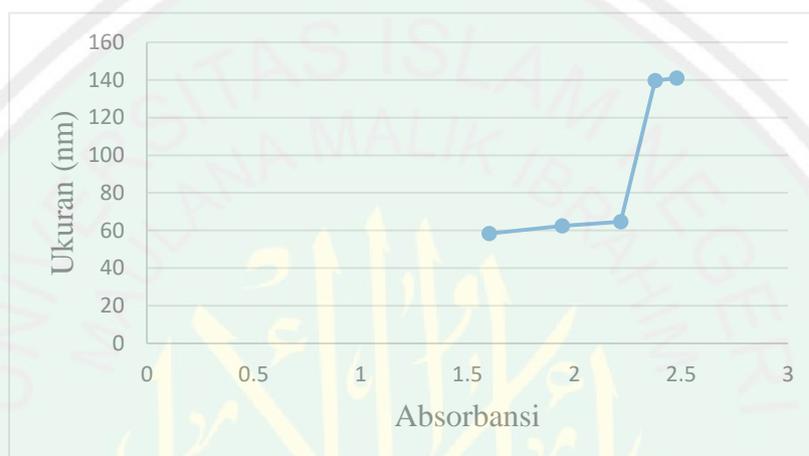
Tabel 5.4 di atas merupakan data ukuran nanopartikel perak dalam skala nanometer yang diperoleh menggunakan instrumen *Particle Size Analyzer* (PSA), sehingga apabila dibuat kurva ukuran NPP setiap minggu maka akan diperoleh kurva seperti di bawah ini:



Gambar 5.6 Ukuran NPP Tiap Minggu

Gambar 5.6 di atas menunjukkan bahwa ukuran NPP semakin besar. Pada minggu pertama sampai pada minggu ketiga, ukuran NPP berada pada rentang 1-100 nm yang mana ukuran tersebut adalah skala ukuran terbentuknya nanopartikel, sedangkan pada minggu keempat dan kelima, ukuran NPP sudah melebihi 100 nm,

yang artinya telah teragregasi. Agregasi ini disebabkan oleh efek gerak *Brown* dan gaya *Van der Waals* dalam larutan nanopartikel (Masakke dkk., 2014). Adanya kecenderungan nanopartikel untuk beragregasi menyebabkan ukuran atau diameter nanopartikel tidak seragam.



Gambar 5.7 Absorbansi dan Ukuran NPP yang Semakin Meningkat pada Tiap Minggu

Gambar 5.7 di atas menunjukkan hubungan antara absorbansi dan ukuran nanopartikel perak pada tiap minggu. Data tersebut menunjukkan bahwa tiap meningkatnya absorbansi, maka ukuran nanopartikel juga semakin meningkat, sehingga stabilitas NPP pada penelitian ini pada minggu pertama sampai minggu kelima berada pada rentang panjang gelombang nanopartikel, akan tetapi pada minggu keempat ukuran nanopartikel melebihi batas NPP yaitu antara 1-100 nm.

5.1.3 Preparasi Sampel Susu Bubuk Bayi

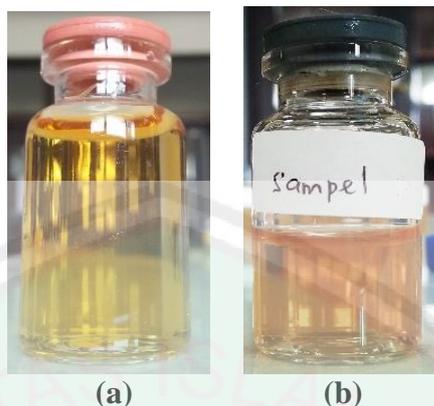
Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel dengan kadar protein tertinggi dari sampel susu bubuk bayi lainnya, karena penambahan melamin secara ilegal pada susu ditujukan untuk meningkatkan kadar nitrogen yang tinggi (66% massa) sehingga pada saat susu diperiksa, susu tersebut seperti mempunyai

kandungan protein yang tinggi, karena secara umum kandungan protein ditetapkan menggunakan metode Kjeldahl dengan cara menentukan kandungan nitrogennya. Preparasi sampel dilakukan dengan memasukkan 1 g serbuk susu ke dalam labu ukur 25 mL, kemudian ditambahkan dengan 7,5 mL TCA 1%. Penambahan TCA ini akan mengendapkan protein yang terdapat dalam susu, yaitu kasein (Sari^a, 2012), sedangkan melamin tidak dapat mengendap (supernatan). Setelah itu, ditambahkan dengan 2,5 mL asetonitril dan ditambahkan dengan aquades sampai tanda batas. Penambahan asetonitril ini untuk membantu proses pengendapan protein (kasein) dalam susu. Hal ini dibuktikan dengan warna cairan supernatan menjadi lebih bening setelah ditambahkan dengan asetonitril. Pada tahap ini, konsentrasi sampel adalah 40.000 ppm. Asetonitril memiliki konstanta dielektrik yang lebih rendah dari aquades, yaitu pada suhu 25°C sebesar 35,94-36,70 K (Dortmun Data Bank, 2013 dalam Mardiana dkk., 2014), sedangkan aquades sebesar 78,3 K (Malmberg *and* Maryott, 1956 dalam Mardiana dkk., 2014). Semakin besar konstanta dielektrik pelarut, semakin kecil gaya tarik dari bahan terlarut. Penambahan asetonitril menurunkan konstanta dielektrik medium pelarut, sehingga memudahkan terbentuknya agregasi protein kasein (Mardiana dkk., 2014), kemudian larutan tersebut divortex selama 1 menit, diultrasonik selama 30 menit, dikocok selama 10 menit, dan disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Proses sentrifugasi dapat memisahkan lemak pada susu dari komponen lain dengan baik melalui proses pengocokan (Mardiana dkk., 2014). Setelah itu akan terbentuk dua fase. Fase supernatan dipindahkan ke *beaker glass* 100 mL dengan melewati kertas saring *Whattman*. Kemudian, larutan supernatan dipipet

sebanyak 10 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, setelah itu ditambahkan dengan asetonitril-aquades (50:50) sampai tanda batas. Pada tahap pengenceran ini, konsentrasi sampel menjadi 16.000 ppm. Setelah itu, larutan ini diaplikasikan ke NPP untuk dianalisis.

5.1.4 Aplikasi Nanopartikel Perak

Aplikasi NPP pada sampel susu dilakukan dengan metode kolorimetri, yaitu dengan melihat perubahan warna yang terjadi. Prinsip metode kolorimetri berbasis nanopartikel perak adalah kemampuan agregasi nanopartikel perak. Ketika nanopartikel beragregasi (satu sama lain saling mendekat), interaksi bidang mereka menuntun terjadinya penggabungan plasmon interpartikel dan mengakibatkan pergeseran LSPR (*Localized Surface Plasmon Resonance*). Ketika nanopartikel teragregasi, LSPR akan bergeser ke panjang gelombang yang lebih panjang dan melebar (Nafia, 2012). Pergeseran LSPR ini ditandai dengan adanya perubahan warna pada larutan. Pada penelitian ini, terdapat perubahan dari kuning menjadi merah. Perubahan warna menjadi merah ini terjadi karena nanopartikel perak distabilkan oleh sitrat yang bermuatan negatif yang dapat menangkal gaya *Van Der Walls* dan menjaga NPP yang terdapat dalam larutan agar tidak teragregasi. Ketika adanya melamin, melamin tersebut berinteraksi dengan NPP yang bermuatan negatif melalui ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen antara NPP dan melamin menyebabkan agregasi. Selama terjadinya agregasi, warna kuning dari NPP berubah menjadi berwarna merah (Kumar *et al.*, 2016), seperti pada Gambar 5.8.



Gambar 5.8 Penampakan Visual (a) NPP Berwarna Kuning dan (b) Sampel + NPP Berwarna Merah



Gambar 5.9 Penampakan Visual NPP + Melamin (Kumar *et al.*, 2016)

Gambar 5.8 di atas menunjukkan hasil penelitian yang telah dilakukan, sedangkan gambar 5.9 menunjukkan aplikasi nanopartikel untuk deteksi melamin pada metode kolorimetri. Semakin besar konsentrasi yang ditambahkan, perubahan warna menjadi merah akan semakin pekat.

Selanjutnya, untuk memastikan apakah perubahan warna tersebut disebabkan oleh adanya melamin atau bukan, maka dapat dilihat dari panjang gelombang maksimal sampel dibandingkan dengan panjang gelombang maksimal standar melamin, seperti pada Tabel 5.5 di bawah ini:

Tabel 5.5 Data Spektra Panjang Gelombang Sampel, Melamin, dan NPP

No.	Spektrum	Literatur	Hasil Penelitian
1.	Melamin standar	219 nm (Ananthakumar <i>et al.</i> , 2015)	207 nm
2.	NPP	398 nm (Varun <i>et al.</i> , 2016)	419 nm

3.	Melamin standar+NPP	± 420 nm (Varun <i>et al.</i> , 2016)	430 nm
4.	Sampel susu	± 200 nm (Ananthakumar <i>et al.</i> , 2015)	206 nm

Berdasarkan Tabel 5.5, panjang gelombang melamin standar pada hasil penelitian adalah 207 nm, sedangkan pada literatur adalah 219 nm. Perbedaan panjang gelombang ini dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan. Pada hasil penelitian yang dilakukan menggunakan pelarut metanol:aquades (50:50), sedangkan pada literatur (Ananthakumar *et al.*, 2015) menggunakan aquades, sehingga terjadi pergeseran hipsokromik yang mana panjang gelombangnya bergeser semakin kecil akibat pengaruh kepolaran pelarut yang digunakan, karena metanol bersifat semi polar. Spektrum NPP pada literatur menunjukkan panjang gelombang sebesar 398 nm, sedangkan pada penelitian menunjukkan panjang gelombang sebesar 419 nm, hal ini diakibatkan instrumen yang digunakan berbeda, pada Varun *et al.* (2016) menggunakan instrumen SPR (*Surface Plasmon Resonance*), sedangkan pada penelitian yang dilakukan menggunakan instrumen UV-Vis. Ukuran NPP pada penelitian Varun *et al.* (2016) pada panjang gelombang 398 nm adalah pada rentang 7-15 nm, sedangkan pada hasil penelitian memiliki ukuran 58 nm pada panjang gelombang 419 nm.

Tabel 5.6 Ukuran Partikel dan Panjang Gelombang dari Nanopartikel Perak (Solomon *et al.*, 2007)

No.	Panjang Gelombang (nm)	Ukuran (nm)
1.	395-405	10-14
2.	420	35-50
3.	438	60-80

Berdasarkan Tabel 5.6, ukuran nanopartikel pada panjang gelombang 398 nm adalah berada pada rentang 10-14 nm dan panjang gelombang 419 nm berada pada rentang 35-50 nm, sedangkan pada penelitian ini ukuran NPP yang diperoleh adalah 58,30 nm, hal ini disebabkan pengukuran yang dilakukan menggunakan instrumen PSA tidak langsung dilakukan pada hari terbentuknya larutan NPP, maka faktor waktu kontak NPP memberikan pengaruh pada ukuran NPP menjadi semakin besar.

Berdasarkan Tabel 5.5, data spektrum melamin standar+NPP menurut literatur adalah berada pada panjang gelombang ± 420 nm (Varun *et al.*, 2016), sedangkan pada hasil penelitian yang didapatkan berada pada panjang gelombang 430 nm. Berdasarkan panjang gelombang NPP (419 nm) dibandingkan dengan panjang gelombang setelah ditambahkan dengan larutan standar melamin (430 nm), terlihat adanya pergeseran panjang gelombang, hal ini menunjukkan adanya interaksi antara NPP dan melamin. Pergeseran panjang gelombang yang semakin tinggi ini menunjukkan bahwa NPP yang ditambahkan melamin mengalami agregasi (Wahyudi dkk., 2011), karena prinsip metode kolorimetri berbasis nanopartikel perak adalah kemampuan agregasi NPP, ketika NPP yang ditambahkan dengan analit yang akan dideteksi maka akan menyebabkan pergeseran panjang gelombang ke yang lebih besar. Selanjutnya, data spektrum sampel susu menurut literatur adalah ± 200 nm (Ananthakumar *et al.*, 2015), sedangkan pada hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan panjang gelombang maksimal 206 nm. Berdasarkan panjang gelombang pada hasil penelitian ini, panjang gelombang sampel susu (206 nm) mendekati melamin standar (207 nm),

dan berdasarkan metode kolorimetri, terdapat perubahan warna dari kuning menjadi merah, sehingga nanopartikel perak menggunakan bioreduktor ekstrak buah kersen dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan melamin dengan menunjukkan adanya perubahan warna secara organoleptis dari kuning menjadi merah, dan perubahan warna tersebut ketika dianalisis kualitatif menggunakan instrumen UV-Vis memperoleh panjang gelombang yang mendekati panjang gelombang standar analit yang dianalisis.

5.1.5 Validasi Metode Analisis Melamin Menggunakan NPP

Pada penelitian ini, metode validasi yang diteliti adalah linearitas, LOD, LOQ, presisi, dan akurasi.

5.1.5.1 Linearitas NPP

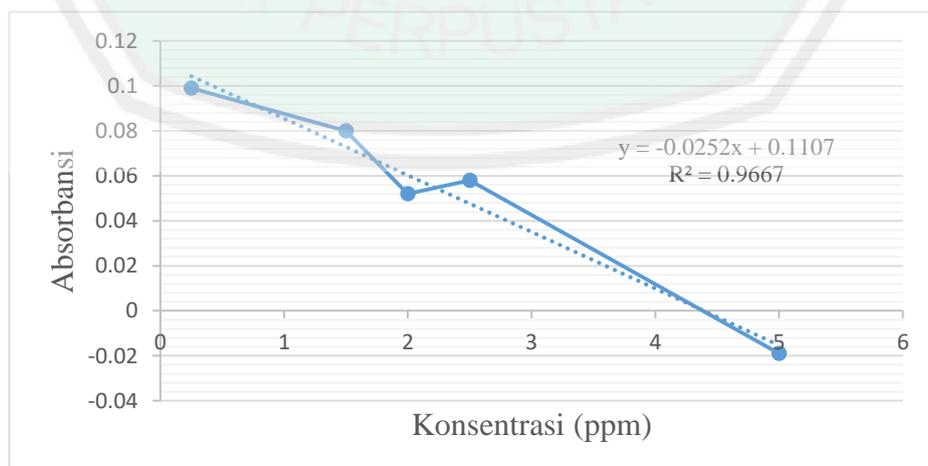
Uji linearitas merupakan suatu metode analisis yang menggambarkan kemampuan suatu alat untuk memperoleh hasil pengujian yang sebanding dengan kadar analit dalam zat uji pada rentang kadar tertentu (Baskoro, 2012). Data linearitas didapatkan dengan cara membuat kurva hubungan antara konsentrasi standar melamin pada sumbu x dan absorbansi pada sumbu y. Sebelum didapatkan data linearitas, terlebih dahulu dibuat kurva baku standar melamin dengan konsentrasi 0,25; 1,5; 2; 2,5; 5 ppm. Larutan standar melamin tersebut ditambahkan dengan NPP sebanyak 3 mL untuk kemudian diletakkan ke dalam UV-Vis dengan pengulangan 3x serapan, sehingga didapatkan nilai absorbansi rata-rata, seperti pada Tabel 5.7.

Tabel 5.7 Hasil Analisis Larutan Standar Melamin menggunakan UV-Vis

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Absorbansi Rata-rata
1.	0,25	0,099	0,099
		0,100	
		0,099	
2.	1,50	0,081	0,080
		0,081	
		0,080	
3.	2,00	0,052	0,052
		0,052	
		0,052	
4.	2,50	0,058	0,058
		0,058	
		0,058	
5.	5,00	-0,019	-0,019
		-0,019	
		-0,019	

Dari data nilai absorbansi di atas, kemudian diolah menggunakan *Microsoft*

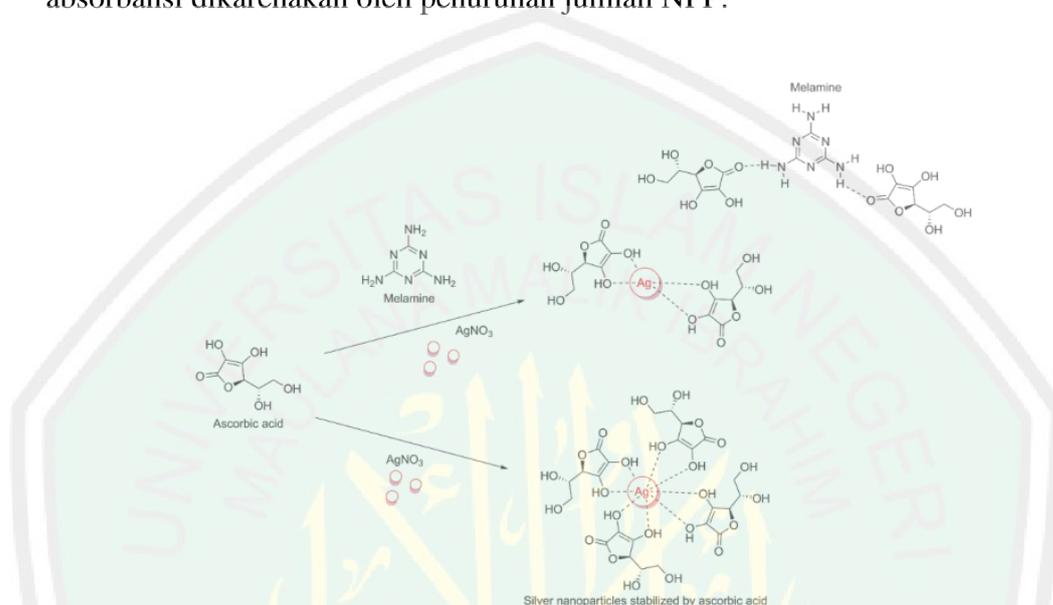
Excel 2013, sehingga didapatkan kurva kalibrasi yaitu:

**Gambar 5.10** Kurva Regresi Linier Larutan Standar Melamin+NPP

Berdasarkan Gambar 5.10, dapat diketahui persamaan regresi linier kurva standar melamin adalah $y = -0,0252x + 0,1107$, dengan nilai r adalah 0,9667. Pada penelitian ini, kurva regresi linier standar melamin dengan penambahan NPP, menunjukkan korelasi yang bernilai negatif. Artinya, semakin besar konsentrasi analit yang ditambahkan, maka absorbansinya semakin menurun.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Nafia (2012), nanopartikel perak yang digunakan untuk mendeteksi logam Cu^{2+} menyebabkan penurunan absorbansi pada tiap peningkatan konsentrasi analit yang ditambahkan, sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Octaviana dkk. (tanpa tahun), nanopartikel emas dengan bioreduktor ekstrak daun belimbing wuluh yang digunakan untuk mendeteksi melamin juga mengalami penurunan absorbansi pada tiap peningkatan konsentrasi analit. Penelitian yang dilakukan oleh Varun *et al.* (2016) menunjukkan penurunan absorbansi nanopartikel perak dengan reduktor asam askorbat untuk mendeteksi melamin dalam sampel susu. Ketika adanya penambahan melamin, NPP dapat terganggu oleh variasi intensitas absorbansi dari beberapa konsentrasi standar melamin. Gangguan dalam sintesis NPP mungkin disebabkan oleh interaksi yang kuat antara ikatan hidrogen dengan agen pereduksi dan analit yang akan dianalisis (Gambar 5.11). Melamin merupakan nukleofil kuat yang memiliki sembilan sisi ikatan hidrogen. Dengan demikian, melamin khusus akan berinteraksi dengan pereduksi melalui ikatan hidrogen yang mengganggu dalam proses sintesis NPP. Interaksi ikatan hidrogen mengkonsumsi sejumlah reduktor yang dengan demikian tidak memiliki agen pereduksi yang cukup untuk mengurangi ion Ag, yang mengakibatkan melemahnya kemampuan untuk mengurangi reduktor, maka akan

mengakibatkan gangguan dari pembentukan partikel nano, sehingga semakin besar konsentrasi melamin, maka absorbansi semakin menurun dan penurunan absorbansi dikarenakan oleh penurunan jumlah NPP.



Gambar 5.11 Skema Ilustrasi Kemungkinan Mekanisme Terganggunya NPP dan Interaksi Ikatan Hidrogen dengan Melamin dan Asam Askorbat (Varun *et al.*, 2016)

Tabel 5.8 Parameter Statistika Larutan Standar Melamin

No.	Parameter Statistika	Data Statistik
1.	Persamaan regresi linier	$y = bx + a$ (Harmita, 2004) $y = -0,0252x + 0,1107$
2.	Intersep (a)	0,1107
3.	Kemiringan garis (b)	-0,0252
4.	Koefisien korelasi (r)	0,9667

Tabel 5.8 merupakan data parameter statistika larutan standar melamin menggunakan NPP. Linearitas dinyatakan dalam koefisien korelasi (r). Koefisien korelasi (r) pada penelitian ini adalah 0,9667. Nilai tersebut kurang memenuhi syarat yang ditetapkan oleh AOAC *guidelines* (2002), yaitu 0,9900. Nilai koefisien

korelasi yang kurang tinggi menunjukkan hubungan yang kurang linear antara sinyal detektor yang terukur dan jumlah melamin dalam contoh. Nilai intersep (a) menyatakan adanya pengaruh matriks pada larutan yang dianalisis. Nilai intersep yang semakin jauh dari nol dipengaruhi oleh matriks dalam larutan yang semakin besar. Hal ini dapat mengganggu penentuan analit dalam contoh yang akan dianalisis. Nilai kemiringan garis ($slope/b$) menyatakan sensitivitas suatu metode. Nilai kemiringan garis yang besar menunjukkan bahwa perubahan konsentrasi yang kecil sangat berpengaruh terhadap sinyal detektor yang dihasilkan sehingga suatu metode dapat dikatakan mempunyai sensitivitas yang sangat baik (Baskoro, 2012). Nilai kemiringan garis pada penelitian ini adalah -0.0235 . Nilai ini sangat kecil sehingga perubahan konsentrasi yang sangat kecil tidak berpengaruh terhadap perubahan sinyal detektor.

5.1.5.2 Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ) NPP

Batas deteksi (LOD) adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi, sedangkan batas kuantitas (LOQ) adalah konsentrasi terendah dalam contoh yang dapat diukur secara kuantitatif dengan akurasi dan presisi. Batas deteksi dan batas kuantifikasi ditentukan dari persamaan regresi linier kurva standar rerata hasil penentuan uji linearitas. Perhitungan LOD dan LOQ bisa dilihat pada Lampiran 4 poin 4.2. Nilai LOD melamin menggunakan NPP pada penelitian ini adalah $1,207$ ppm, sedangkan nilai LOQnya adalah $4,024$ ppm. Nilai batas kuantifikasi melamin yang terukur di bawah nilai ini memberikan ketelitian dan ketepatan yang kurang baik.

5.1.5.3 Presisi NPP

Presisi adalah ukuran kedekatan hasil analisis yang diperoleh dari serangkaian pengukuran ulangan dari ukuran yang sama. Nilai presisi diwakilkan oleh nilai simpangan baku dan % simpangan baku relatif (% SBR) dari keterulangan masing-masing deret standar melamin yang diukur pada suatu konsentrasi. Kriteria presisi diberikan jika metode memberikan nilai % SBR $\leq 2\%$. Kriteria ini sangat fleksibel tergantung pada konsentrasi analit yang dianalisis, jumlah sampel dan kondisi laboratorium (Riyanto, 2014). Nilai SBR atau koefisien variasi meningkat dengan menurunnya kadar analit yang dianalisis (Harmita, 2004).

Tabel 5.9 Presisi Melamin pada Batasan 0,25-5,00 ppm

Konsentrasi (ppm)	Konsentrasi Hasil Analisis		
	Rata-rata konsentrasi yang terbaca	SD (SB)	% SBR
0,25	0,451	0,0229	5,079
1,50	1,191	0,0229	1,922
2,00	2,329	0	0
2,50	2,091	0	0
5,00	5,147	0	0

Hasil pengujian presisi melamin menggunakan NPP pada konsentrasi analit 0,25 ppm menunjukkan nilai %SBR (Simpangan Baku Relatif) sebesar 5,079%, hasil tersebut tidak memenuhi persyaratan presisi yaitu $\leq 2\%$, sedangkan %SBR pada konsentrasi analit 1,50; 2,00; 2,50; dan 5,00 ppm memenuhi persyaratan presisi, sehingga pada penelitian ini semakin besar konsentrasi analit yang ditambahkan, maka presisinya akan semakin baik. Hal ini menunjukkan bahwa

metode analisis melamin menggunakan NPP akan memberikan hasil yang presisi apabila analit yang ditambahkan semakin besar.

5.1.5.4 Akurasi NPP

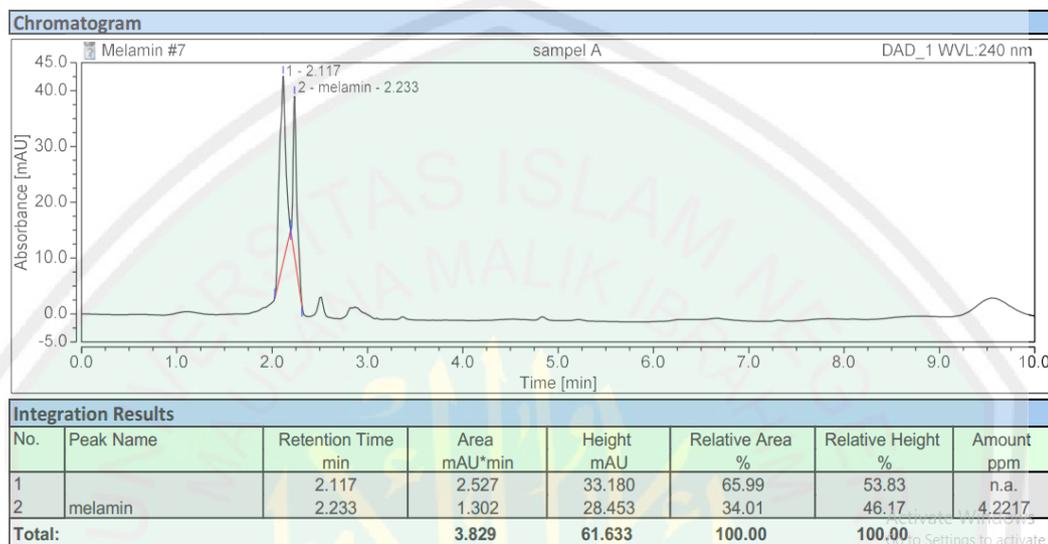
Parameter metode validasi selanjutnya adalah akurasi. Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Akurasi dapat ditentukan melalui dua cara, yaitu metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) dan metode penambahan baku (*standard addition method*) (Riyanto, 2014). Pada penelitian ini, menggunakan metode adisi (penambahan baku), dimana sampel dianalisis lalu sejumlah analit (variasi konsentrasi pada persamaan regresi) ditambahkan ke dalam sampel, dicampur dan dianalisis lagi. Selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya. Berdasarkan pada Lampiran 4.4, parameter akurasi metode NPP untuk menganalisis melamin menunjukkan nilai %*recovery* sebesar 63,04% dengan penambahan standar 2,5 ppm. Jadi, nilai akurasi metode NPP pada penelitian ini kurang memenuhi persyaratan, yaitu dengan syarat persen perolehan kembali 98-102 % (Alwi, 2017).

5.2 Validasi Metode Analisis Melamin Menggunakan HPLC

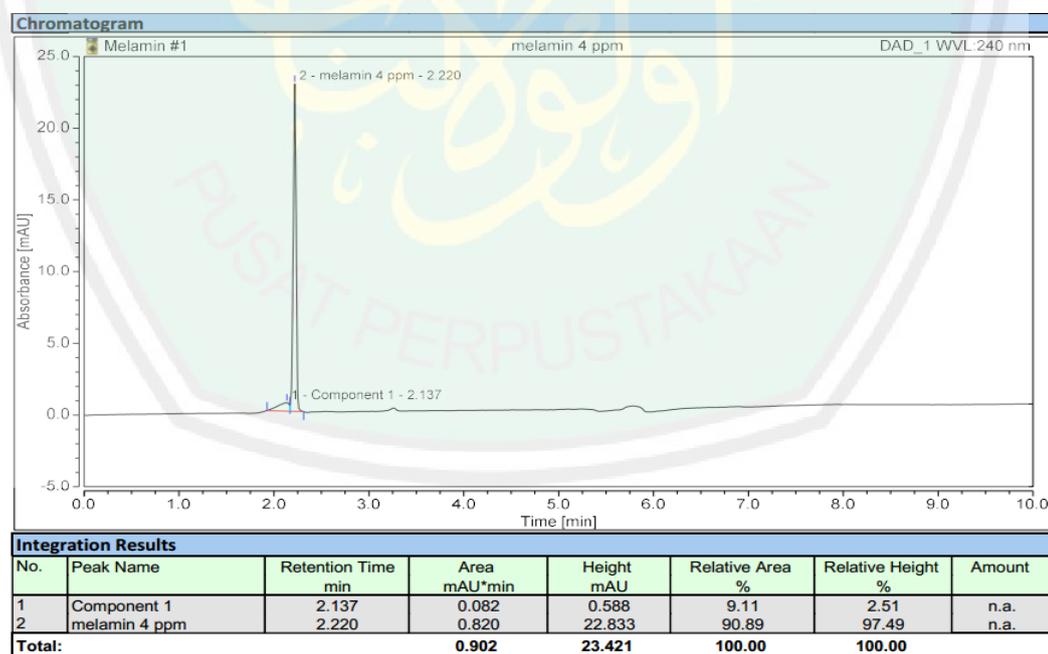
5.2.1 Analisis Melamin Menggunakan HPLC

Analisis sampel yang dilakukan menggunakan HPLC dilakukan dengan melihat waktu retensi dari sampel yang diteliti, kemudian dibandingkan dengan standar baku melamin. Pada penelitian ini, waktu retensi sampel adalah 2,233

menit, sedangkan waktu retensi standar melamin 4 ppm adalah 2,220 menit, seperti pada Gambar 5.12 dan 5.13.



Gambar 5.12 Kromatogram dan Waktu Retensi Sampel pada Menit ke 2,233



Gambar 5.13 Kromatogram dan Waktu Retensi Melamin Standar 4 ppm pada Menit ke 2,220

Pada Gambar 5.12 dan 5.13, waktu retensi sampel dan melamin standar 4 ppm tidak jauh berbeda, sehingga berdasarkan hasil yang diperoleh menggunakan

HPLC, sampel yang dipilih mengandung melamin. Hal ini sesuai dengan uji kualitatif secara kolorimetrik pada metode menggunakan NPP yang mana sampel menunjukkan adanya perubahan warna dari kuning menjadi merah.

5.2.2 Pembuatan Larutan Standar Melamin

Pembuatan larutan standar melamin dengan berbagai konsentrasi ini dibuat dari pengenceran larutan baku melamin 100 ppm. Setelah itu dipipet sebanyak 50 μL , 200 μL , 600 μL , 800 μL , dan 1000 μL dari larutan induk melamin 100 ppm, masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan dengan fase gerak (asetonitril-aquabides), sehingga akan didapatkan larutan standar melamin sebesar 0.5, 2, 6, 8, 10 ppm, kemudian disonikasi selama 15 menit.

Kemudian instrumen HPLC diatur kondisinya sesuai dengan jurnal Lestari (2011), yaitu kolom HPLC dijenuhkan dengan fase gerak selama 20 menit. Detektor diatur pada panjang gelombang 240 nm. Kemudian larutan dengan konsentrasi 0.5, 2, 6, 8, dan 10 ppm disuntikkan sebanyak 1 μL ke dalam *loop injector* HPLC dengan kecepatan alir fase gerak 1 mL/menit. Lalu didapatkan luas puncak pada kromatogram dan dibuat kurva baku serta persamaan regresinya.

5.2.3 Validasi Metode Analisis Melamin

Metode validasi analisis melamin menggunakan HPLC ini adalah linearitas, LOD dan LOQ.

5.2.3.1 Linearitas HPLC

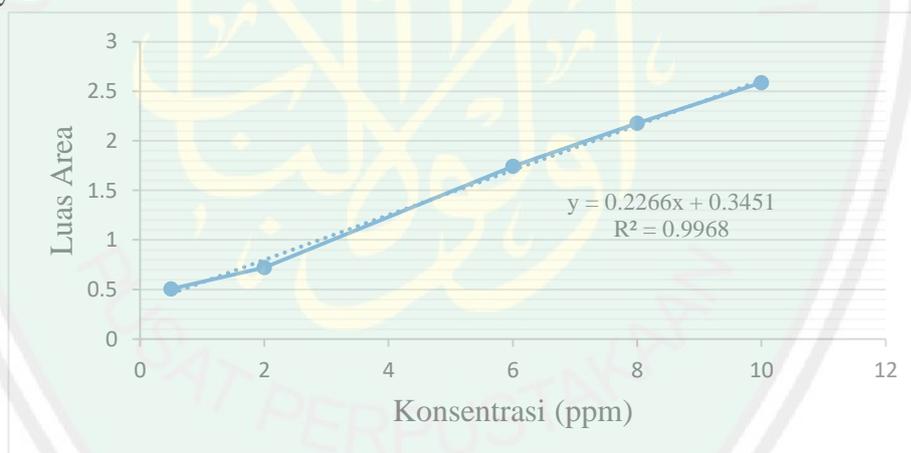
Uji linearitas HPLC ini didapatkan dari luas area larutan standar melamin dengan berbagai konsentrasi. Larutan standar yang digunakan adalah 0.5, 2, 6, 8,

10 ppm. Kemudian didapatkan persamaan regresi linier dengan x adalah konsentrasi larutan standar, dan y adalah luas area larutan standar.

Tabel 5.10 Luas Area Larutan Standar Melamin Menggunakan HPLC

No.	Konsentrasi (ppm)	Luas Area
1.	0.5	0.505
2.	2	0.720
3.	6	1.741
4.	8	2.178
5.	10	2.587

Berdasarkan data konsentrasi dan luas area pada Tabel 5.11, kemudian diolah menggunakan *Microsoft Excel* 2013, sehingga didapatkan persamaan regresi linier, yaitu:



Gambar 5.14 Persamaan Regresi Linier HPLC

Persamaan regresi linier pada HPLC ini adalah $y = 0,2266x + 0,3451$, dengan koefisien korelasi (r) adalah 0,9968. Nilai koefisien korelasi pada HPLC ini memenuhi persyaratan linearitas yang telah ditetapkan oleh AOAC *guidelines* (2002), yaitu 0,9900, sehingga penggunaan metode HPLC ini dapat digunakan untuk analisis dengan hasil yang baik.

5.2.3.2 Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ) HPLC

Jumlah terkecil analit dalam sampel yang masih dapat dideteksi (LOD) pada metode HPLC ini adalah 0,787 ppm. Sedangkan batas kuantifikasi (LOQ) analit yang dapat diukur secara kuantitatif dengan akurasi dan presisi adalah 2,624 ppm. Sehingga apabila metode ini digunakan untuk mengukur melamin dibawah kadar LOQ, maka akan memberikan ketelitian dan ketepatan yang kurang baik.

5.3 Perbandingan Validasi Metode Analisis Melamin Menggunakan NPP dan HPLC

Berdasarkan perhitungan yang telah dilakukan, nilai koefisien korelasi untuk NPP adalah 0,9667, sedangkan untuk HPLC adalah 0,9968. Nilai untuk parameter linearitas pada HPLC lebih baik dibandingkan dengan NPP. Sehingga, metode HPLC memiliki kemampuan analisis melamin yang lebih baik dibandingkan dengan NPP.

Selain itu, nilai parameter LOD dan LOQ untuk NPP dibandingkan dengan metode HPLC yang telah tervalidasi untuk mengetahui konsentrasi analit terendah yang dapat dianalisis. Nilai LOD dan LOQ untuk NPP berturut-turut adalah 1,207 ppm dan 4,024 ppm. Sedangkan, nilai LOD dan LOQ untuk HPLC adalah 0,787 ppm dan 2,624 ppm.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dan hasil yang telah diperoleh, didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Karakteristik nanopartikel perak dengan bioreduktor ekstrak buah kersen adalah memiliki panjang gelombang 419 nm dan ukuran sebesar 58,30 nm.
2. Nilai parameter validasi metode NPP dengan bioreduktor ekstrak buah kersen menunjukkan hasil linearitas (r) 0,9667 (syarat: $\geq 0,9900$), LOD & LOQ masing-masing 1,207 ppm & 4,024 ppm, nilai %SBR presisi 1,922% pada konsentrasi standar 1,50 ppm (syarat: $\leq 2\%$), nilai %*recovery* akurasi 63,04% (syarat: 98-102%) pada konsentrasi standar 2,50 ppm.
3. Perbandingan metode validasi NPP dan HPLC untuk analisis melamin yaitu nilai linearitas (r) 0,9667 dan 0,9968, nilai LOD NPP 1,207 ppm dan HPLC 0,787 ppm, serta nilai LOQ NPP 4,024 ppm dan HPLC 2,624 ppm.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, hal yang perlu diperhatikan untuk memperbaiki dan mengembangkan penelitian selanjutnya adalah perlu dilakukan penelitian analisis melamin dengan menggunakan konsentrasi analit atau rentang kerja yang lebih besar dibandingkan nilai LOD dan LOQ agar didapatkan nilai akurasi yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M. dan Khairurrijal. 2009. Review: Karakterisasi Nanomaterial. *Jurnal Nanosains & Nanoteknologi*. Vol. 2, No. 1. Hal: 1-9.
- Adams, A., and Ray, C. 1988. *Spectroscopy Atomic and Molecule*. Bombay: Himalaya Publishing House.
- Aditya, D. *Handout Metodologi Research Variabel Penelitian & Definisi Operasional*. Surakarta: Poltekkes.
- Alam, M. F., Laskar, A. A., Ahmed, S., Shaida, M. A., and Younus, H. 2017. Colorimetric Method for The Detection of Melamine Using In-Situ Formed Silver Nanoparticles Via Tannic Acid. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. Hal: 1-33.
- Alwi, H. 2017. Validasi Metode Analisis Flavonoid dari Ekstrak Etanol Kasumba Turate (*Carthamus tinctorius* L.) Secara Spektrofotometri UV-Vis [skripsi]. Makassar: Universitas Islam Negeri.
- Ananthakumar, T., Suresh, A. J., and Niraimathi, V. 2015. Detection of Melamine Residue in Raw Milk and Milk Related Products by UV Spectrophotometry. *International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)*. Vol. 06, No. 02. Hal: 234-240.
- Anjani, N. T., Supartono, dan Mursiti, S. 2016. Sabun Mandi Cair Antibakteri dari Ekstrak Buah Kersen (*Muntingia calabura* L.). *Indonesian Journal of Chemical Science*. Vol. 5, No.3. Hal: 225-228.
- Anonim. 2015. <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Glycine-2D-flat.png>. Diakses 11 Februari 2018.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists. 2012. *Methods Committee Guidelines for Validation of Microbiological Methods for Food and Environmental Surfaces*. USA: AOAC International.
- Ardianingsih, R. 2009. Penggunaan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dalam Proses Analisa Deteksi Ion. *Berita Dirgantara*. Vol. 10, No. 4. Hal: 101-104.
- Aswad, M., Fatmawaty, A., Nursamsiar, dan Rahmawanti. 2011. *Validasi Metode Spektrofotometri Sinar Tampak Untuk Analisis Formalin Dalam Tahu*. Makassar: Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar dan Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFA) Kebangsaan Makassar.

- Babaahmadi, V., Montazer, M., dan Toliyat, T. 2016. *Ex-situ* and *In-situ* Post-Photosynthesis of Silver Nanoparticles on Polyamide Fabric Using Daylight Irradiation. *Indian Journal of Fibre & Textile Research*. Vol. 41. Hal: 55-61.
- Badan Standardisasi Nasional. 2009. *Susu Coklat Bubuk SNI 3752:2009*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Baskoro, B. D. 2012. Studi Optimisasi dan Metode Validasi Untuk Penentuan Melamin dan Asam Sianurat dalam Sampel Susu Formula dengan HPLC [skripsi]. Depok: Universitas Indonesia.
- Cahyadi, E. 2013. Uji Validasi Melamin dalam Susu Bubuk dengan Metode LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrofotometry*) dan Uji Toksisitas pada *Artemia salina* [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Caro, C., Castillo, P. M., Klippstein, R., Pozo, D., and Zaderenko, A. P. 2010. *Silver Nanoparticles: Sensing and Imaging Application*. University of Seville-UPO-Junta the andalucia-spain. Diakses 20 Januari 2018.
- Chan, C.C., Lee, H. L. Y. C., and Zhang, X. 2004. *Analytical Method Validation and Instrumental Performental Verifivation*. Willey Intercine A. John Willy and Sons., Inc., Publication.
- Chen, L., Chang, Y., Chen, T., and Yang, D. 2017. *Food Function*. DOI: 10.1039/C7FO00059F. Diakses 1 Februari 2018.
- Chou, K. S. and Lu, Y. C. 2008. High-Concentration Nanoscale Silver Colloidal Solution and Preparing Process Thereof. *Patent Application Publication*. US.2008/0064767 A1.
- Creswell, C., Ruquist, O., dan Campbell, M. 2005. *Analisis Spektrum Senyawa Organic*. Bandung: Institut Teknologi bandung.
- Deputi MENLH Bidang Pengendalian Pencemaran Kementerian Negara Lingkungan Hidup. 2006. *Panduan Inspeksi Penaatan Pengelolaan Lingkungan Industri Pengolahan Susu*. Jakarta: Asisten Deputi Urusan Pengendalian Pencemaran Agroindustri.
- Dionex. 2009. Determination of Melamine in Milk Powder by Reversed-Phase HPLC with UV Detection. <http://www.dionex.com/en-us/webdoes/70949-AN224-HPLC-Melamine-Milkpowder-18Mar09-LPN2184.pdf>.
- Dortmun Data Bank. 2013. Dielectric Constant, DDBST GmbH. http://www.ddbst.com/en/EED/PCP/DEC_C3.

- Du, G. 2008. Milk Powder Sent for Testing After Dozens of Babies Get Sick. Window of China. *Xinhua News*.
- Elumalai, E. K., Prasad, T. N. K. V., Nagajyothi, P. C. and David, E. 2011. A Bird's Eye View on Biogenic Silver Nanoparticles and Their Application. *Pelagia Research Library*. Vol. 2, No. 2. Hal: 88-97.
- Farida, Y., Sugiastuti, S., dan Sari, W. L. 2009. Uji Aktivitas Antioksidan pada Buah Talok (*Muntingia calabura* L.) dengan Metode DPPH dan Rancimat. Jurnal disampaikan dalam *Seminar Nasional Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI)*. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila.
- [FDA] Food and Drug Administration. 2008. *Interim Safety and Risk Assessment of Melamine and Its Analogues in Food for Humans*. United State: FDA.
- Ferdinal, N., Aprinaldi, D., dan Arifin, B. 2016. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa triterpenoid Serta Uji Toksisitas dengan Metode *Brine-Shrimp Lethality's Test* dari Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang *Muntingia calabura* L. *Jurnal Kimia Unand*. Vol. 5, No.1. Hal: 7-10.
- Frattini, A., Pelligri, N., Nicastro, D., and De Sanctis, O. 2005. Effect of Amine of Ag Nanoparticles Using Aminosilanes. *Materials Chemistry and Physics*. Vol. 94. Hal: 148-152.
- Hamka. 1983. *Tafsir Al-Azhar*. Jakarta: Pustaka Panjimas.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. 1, No. 3. Hal: 117-135.
- Haryani, Y., Kartika, G. F., Yuharmen, Putri, E. M., Alchalis, D. T., dan Melanie, Y. 2016. Pemanfaatan Ekstrak Air Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Linn. Var. *rubrum*) pada Biosintesis Sederhana Nanopartikel Perak. *Chimica et Natura Acta*. Vol.4, No. 3. Hal: 151-155.
- Hasan, S. 2015. A Review on Nanoparticles: Their Synthesis and Types. *Research Journal of Recent Sciences*. Vol. 4. Hal: 1-3.
- Hok, K. T.; Setyo, W.; Irawaty, W.; dan Soetaredjo, F. E. 2007. Pengaruh Suhu dan Waktu Pemanasan terhadap Kandungan Vitamin A dan C pada Proses Pembuatan Pasta Tomat. *Widya Teknik*. Vol. 6, No. 2. Hal: 111-120.
- Ibrahim, H. M. M. 2015. Green Synthesis and Characterication of Silver Nanoparticles Using Banana Peel Extract and Their Antimicrobial Activity

Against Representative Microorganisms. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. Hal: 265-275.

Jain, S. and Mehata S. 2017. Medicinal Plant Leaf Extract and Pure Flavonoid Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Enhanced Sntibacterial Property. *Scientific Reports*. Vol.7. Hal: 1-13.

[KBBI] Kamus, Tim Penyusun Pusat. 1989. *Kamus Besar Bahasa Indonesia*. Jakarta: Balai Pustaka.

Kumar, N., Harish, K., Bimlesh, M., and Raman, S. 2016. Colorimetric Determination of Melamine in Milk Using Unmodified Silver Nanoparticles. *Spectrochim. Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. Vol. 156. Hal: 89-97.

Kim, Y., Johnson, R. C., and Hupp, J. T. 2001. Gold Nanoparticle-Based Sensing of “Spectroscopically Silent” Heavy Metal Ions. *American Chemical Society*. Vol. 1, No. 4. Hal: 165-167.

Lestari, I. P., Rahayu, W. S., dan Utami, P. I. 2011. *Identifikasi Melamin dalam Susu Impor yang Beredar di Swalayan brebes dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. *Pharmacy*. Vol. 8, No. 1. Hal: 84-92.

Liu, Y., Todd, E. E. D., Zhang, Q., Shi, J., and Liu, X. 2012. Review: Recent Developments in The Detection of Melamine. *Journal of Zhejiang University Science B (Biomedicine & Biotechnology)*. Vol. 13, No. 7. Hal: 525-532.

Malmberg, C.G. and Maryott, A.A. 1956. Dielectric Constant of Water from 0° to 100° C. *J. Res. Natl. Bur. Stand.* Vol. 56, No. 1. Hal: 1-8.

Malvern. 2015. *A Basic Guide to Particle Characterization*. United Kingdom: Malvern Instruments Limited.

Mardiana, Damayanti, S., dan Ibrahim, S. 2014. Pengaruh Penyiapan Sampel pada Pengembangan Metode Analisis Laktosa dalam Susu Formula Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Acta Pharmaceutica Indonesia*. Vol. 39, No. 1 & 2. Hal: 33-39.

Masakke, Y., Rasyid, M., dan Sulfikar. 2014. Biosintesis Nanopartikel Perak Menggunakan Ekstrak Metanol Daun Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Chemica*. Vol. 15, No. 2. Hal: 45-57.

[Menkes RI] Menteri Kesehatan RI NO 34. 2012. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 34 tahun 2012 tentang Batas Maksimum Melamin dalam Pangan*. Jakarta: Permenkes.

- Nafia, I. 2012. Nanopartikel Perak termodifikasi L-Sistein Sebagai Indikator Warna Untuk Logam Pencemar pada Sampel Ikan Tongkol (*Eunthynnus affinis*) [skripsi]. Depok: Universitas Indonesia.
- Neldawati, R. dan Gusnadi. 2013. Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid Untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar of Physics*. Vol. 2. Hal: 76-83.
- Ningsih, U. D., Mukaromah, A. H., dan Sitomurty, D. H. 2017. Perbedaan Kadar Vitamin C pada Buah Kersen (*Muntingia calabura* L.) Berwarna Merah dan Hijau Muda [abstrak skripsi]. Semarang: Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Nissa, C. 2011. *Kajian Cemarkan Melamin dalam Produk Pangan dan Pengawasannya di Indonesia* [thesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Novita, D. 2016. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dan Vitamin C Ekstrak Buah Kersen (*Muntingia calabura* L.) [skripsi]. Jember: Universitas Jember.
- Octaviana, Y., Zakir, M., dan Raya, I. Tanpa tahun. Sintesis Nanopartikel Emas dengan Bioreduktor Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang Dimodifikasi 2,4,6-Triitol-1,3,5-Triazin untuk Sensor Melamin. *Jurnal*.
- Patra, S., Pandey, A. K., Sen D., Ramagiri, S. V., Bellare, J. R., Mazumder, S., and Goswami, A. 2014. Redox Decomposition of Silver Citrate Complex in Nanoscale Confinement: An Usual Mechanism of Formation and Growth of Silver Nanoparticles. *Langmuir*. Vol. 30. Hal: 2460-2469.
- Payapo, I. A., Zakir, M., dan Soekamto, N. H. Tanpa tahun. Sintesis Nanopartikel Perak Menggunakan Bioreduktor Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa*) dan Potensinya Sebagai Tabir Surya. *Jurnal*.
- Phanjom, P. and Ahmed, G. 2015. Biosynthesis of Silver Nanoparticles by *Aspergillus oryzae* (MTCC No. 1846) and Its Characterizations. *Nanoscience and Nanotechnology*. Vol. 5, No. 1. Hal: 14-21.
- Ping, H., Zhang, M., Li, H., Li, S., Chen, Q., Sun, C., and Zhang, T. 2012. Visual Detection of Melamine in Raw Milk by Label-Free Silver Nanoparticles. *Elsevier*. Vol.23. Hal: 191-197.
- Pinto, V.V., Ferreira, M. J., Silva, R., Santos, H. A., Silva, F., and Perreira, C. M. 2010. Long Time Effect on The Stability of Silver Nanoparticles in Aqueous Medium: Effect of The Synthesis and Storage Conditions. *Colloids and*

Surfaces a-Physico-chemical and Engineering Aspects. Vol 364. Hal: 19-25.

- Rachmawati, S. dan Widiyanti, P.M. 2013. Kadar Melamin pada Produk Berbahan Susu dan Susu Bubuk yang Dianalisis secara *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS). *JITV*. Vol. 18, No. 1. Hal: 63-69.
- Rahman, M., Fakir, S. A., dan Rahman, M. 2010. Fruit Growth of ChinaCherry (*Muntingia calabura*). *Botany research Internationa* 3. ISSN 2221-3635.
- Ramalingam, K., Devasena, T., Senthil, B., Kalpana, R., and Jayvel, R. 2017. Silver Nanoparticles for Melamine Detection in Milk Based on Transmitted Light Intensity. *IET Science, Measurement & Technology*. Vol. 11, No. 2. Hal: 171-178.
- Ristian, I. 2013. *Kajian Pengaruh Konsentrasi Perak Nitrat (AgNO₃) Terhadap Ukuran Nanopartikel Perak* [skripsi]. Semarang: Program Sarjana Universitas Negeri Semarang.
- Riwayati, I. 2007. Analisa Resiko Pengaruh Partikel Nano Terhadap Kesehatan Manusia. *Momentum*. Vol. 3, No. 2. Hal: 17-20.
- Riyanto. 2014. *Validasi & Verifikasi Metode Uji: Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi*. Yogyakarta: Deepublish.
- Rosalia. 2016. Makanan Halal Dalam Islam. <https://dalamislam.com/makanan-dan-minuman/makanan-halal/makanan-halal>. Diakses 25 Januari 2016.
- Rusnaenah, A., Zakir, M., dan Budi, P. 2017. Biosintesis Nanopartikel Perak Menggunakan Ekstrak Daun Ketapang, Modifikasi dengan Asam p-Kumarat untuk Aplikasi Deteksi Melamin. *Ind. J. Chem. Res*. Vol. 4, No. 2. Hal: 367-372.
- Saha, A., Roy, B., Garai, A., and Nandi, A. K. 2009. *Langmuir* 25. 8457-8461.
- Saifudin, A. B. 2002. Buku Panduan Praktis Pelayanan Kesehatan Maternal Neonatal. <http://digilib.unimus.ac.id/download.php?id=19334>. Diakses 27 Januari 2018.
- Salasa, D., Aritonang, H., Kamu, D. V. S. 2016. Sintesis Nanopartikel Perak (Ag) dengan Reduktor Natrium Borohibrida (NaBH₄) Menggunakan Matriks Nata-De-Coco. *Chem. Prog*. Volume 9, Nomor 2. Hal: 40-47.
- Saputra, A. H., Haryono, A., Laksmono, J. A., dan Anshari, M. H. 2011. Preparasi Koloid Nanosilver dengan Berbagai Jenis Reduktor Sebagai Bahan Anti

- Bakteri. *Indonesian Journal of Materials Science*. Vol. 12, No. 3. Hal: 202-208.
- Sari^a, A. Z. 2012. *Penentuan Cemaran Melamin Dalam Susu Secara Potensiometri Menggunakan Elektroda Pasta Karbon Nanopori / Molecularly Imprinted Polymer* [skripsi]. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Sari^b, P. I., Firdaus, M. L., dan Elvia, R. 2017. Pembuatan Nanopartikel Perak (NPP) Dengan Bioreduktor Ekstrak Buah *Muntingia calabura* L. Untuk Analisis Logam Merkuri. *Jurnal Pendidika dan Ilmu Kimia*. Vol.1, No. 1. Hal: 20-26.
- Sastrohamidjojo, H. 2001. *Dasar-dasar Spektroskopi*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- ScienceLab. 2005. Material Safety Data Sheet (MSDS) Melamine. www.sciencelab.com/msds.php?msdsId=9924600. Diakses 22 Januari 2018.
- ScienceLab. 2013. *Material Safety Data Sheet (MSDS) Silver Nitrate*. <http://www.sciencelab.com/msds.php?msdsId=9927411>. Diakses 23 Januari 2018.
- Selvam, K., Sudhakar, C., Govarthanan, M., Thiyagarajan, P., Sengottaiyan, A., Senthilkumar, B., and Selvankumar, T. 2016. Eco-Friendly Biosynthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Using *Tinospora cordifolia* (Thunb.) Miers and Evaluate Its Antibacterial, Antioxidant Potential. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. Hal: 1-8.
- Sibi, G., Naveen, R., Dhananjaya, K., Ravikumar, K. R., and Mallesha, H. Potential Use of *Muntingia calabura* L. 2012. Extracts Against Human and Plant Pathogens. *Phcog J*. Vol. 4, No. 34. Hal: 44-47.
- Sigmaaldrich, 2018. https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/structure6/015/mfcd00082990.eps/_jcr_content/renditions/mfcd00082990-large.png. Diakses 19 Maret 2018.
- Singh, A., Jha, S., Srivastava, G., Sarkar, P., and Gogoi, P. 2013. Silver Nanoparticles as Fluorescent Probes: New Approach For Bioimaging. *International Journal of Scientific & Technology Research*. Vol. 2, No. 11. Hal: 153-157.
- Singh, R.; Iye, S., Prasad, S., Deshmukh, N., Gupta, U., Zanje, A., Patil, S., and Joshi, S. 2017. Phytochemical Analysis of *Muntingia calabura* Extracts Possessing Anti-Microbial and Ant-Fouling Activities. *International*

Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research. Vol. 9, No. 6.
Hal: 826-832.

Solomon, S. D., Bahadory, M., Jeyarajasingam, A. V., Rutkowsky, S. A., Boritz, C. 2017. Synthesis and Study of Silver Nanoparticles. *Journal of Chemical Education*. Vol. 84, No. 02. Hal: 322-325.

Sonia. 2012. *Modifikasi Nanopartikel perak dengan Kitosan Sebagai pendeteksi Ion Logam Berat* [skripsi]. Depok: Program Sarjana Universitas Indonesia.

Spiegel, M. dan Stephens, L. J. 1988. *Statistika Edisi Kedua*. Bandung: Erlangga.

Sun, F., Ma, W., Xu, L., Zhu, Y., Liu, L., Peng, C., Wang, L., Kuang, H., and Xu, C. 2010. Analytical Methods and Recent Developments in The Detection of Melamine. *Trends in Analytical Chemistry*. Vol. 29, No. 11. pp: 1239-1249.

Vail, T. M., Jones, P. R., and Sparkman, O. D. 2007. Rapid and Unambiguous Identification of Melamine in Contaminated Pet Food Based on Mass Spectrometry with Four Degrees of Confirmation. *Journal of Analytical Toxicology*. Vol. 31. Pp: 304-312.

Varun, S., Daniel, K. S. C. G., and Gorthi, S. S. 2016. Rapid Sensing of Melamine in Milk by Interference Green Synthesis of Silver Nanoparticles. *Materials Science & Engineering C*.

Vijayanand, S., and Thomas, A. S. 2016. Screening of *Michelia champacca* and *Muntingia calabura* Extracts for Potential Bioactives. *International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)*. Vol. 7, No. 6. Pp: 266-273.

Wang, Y., Yang, F., and Yang, X. 2010. Colorimetric Detection of Mercury(II) Ion Using Unmodified Silver Nanoparticles and Mercury-Specific Oligonucleotides. *Applied Materials & Interfaces*. Vol. 2, No. 2. Pp: 339-342.

Wahyudi, T., Sugiyana, D., dan Helmy, Q. 2011. Sintesis Nanopartikel Perak dan Uji Aktivasnya Terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. *Balai Besar Tekstil*. Volume 26, Nomor 1. Hal: 55-60.

WHO. 2002. Silver and Silver Compounds: Enviromental Aspects, (Concise International Chemical Assesment; 44). *Website: <http://www.who.int/publications/cicad/en/cicad44.pdf>*. Diakses 20 Januari 2018.

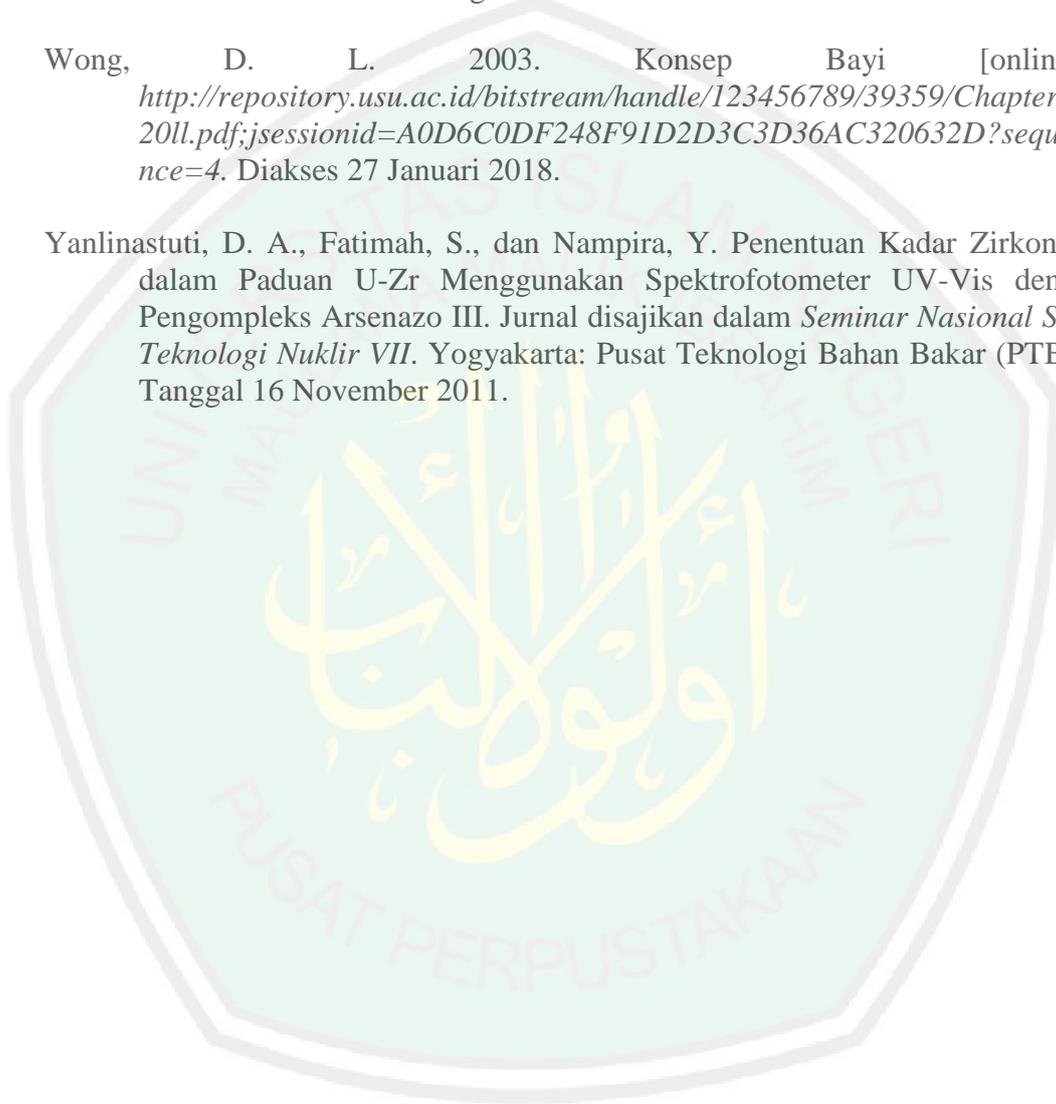
WHO^a. 2008. *Toxicological and Health Aspects of Melamine and Cyanuric Acid*. Canada: World Health Organization.

WHO^b. 2008. *Melamine and Cyanuric Acid: Toxicity, Preliminary Risk Assessment and Guidance on Levels in Food*. Canada: World Health Organization.

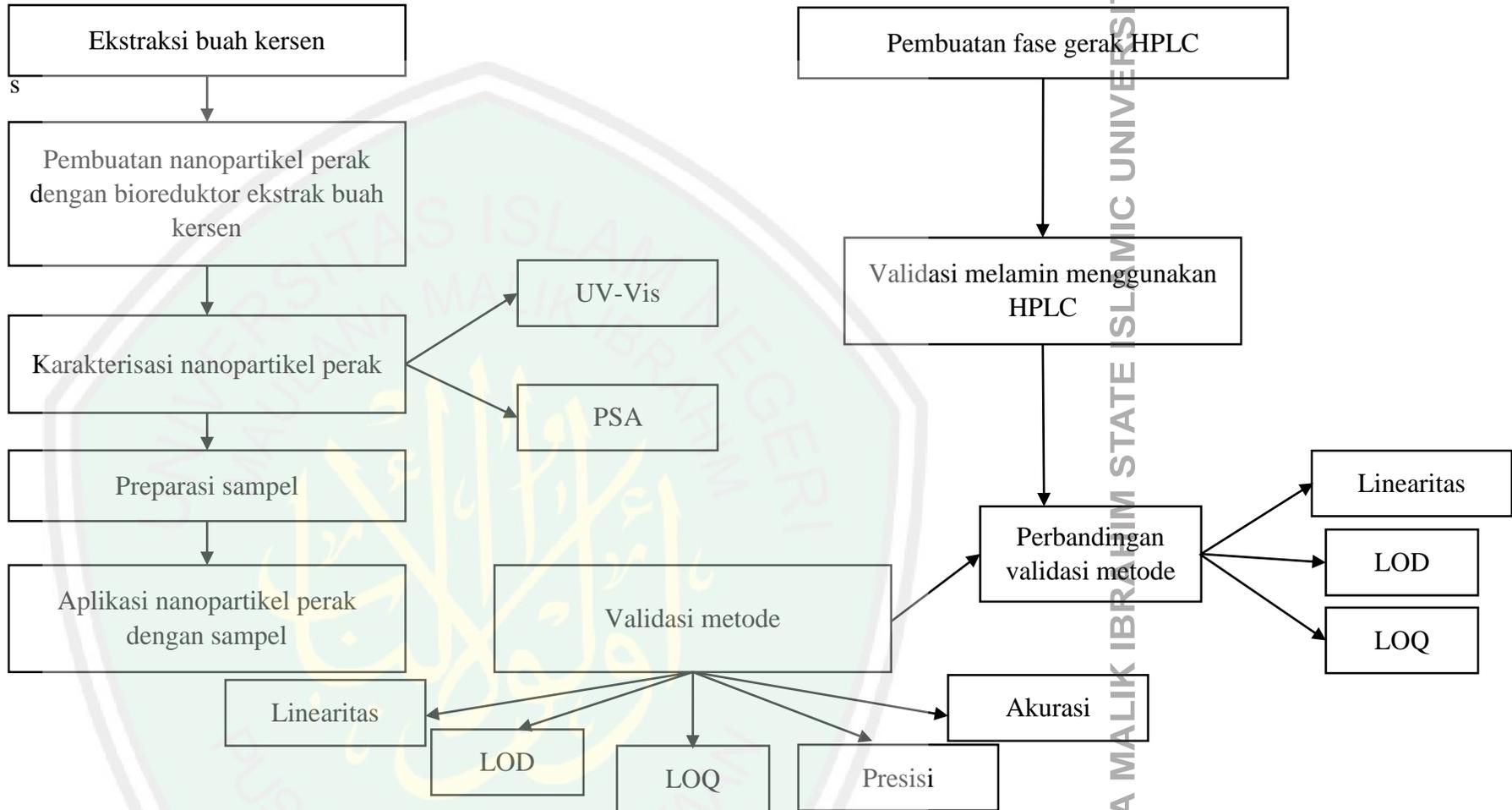
WHO^c. 2008. *Background Paper on Occurrence of Melamine in Foods and Feed*. Canada: World Health Organization.

Wong, D. L. 2003. Konsep Bayi [online]. <http://repository.usu.ac.id/bitstream/handle/123456789/39359/Chapter%2011.pdf;jsessionid=A0D6C0DF248F91D2D3C3D36AC320632D?sequence=4>. Diakses 27 Januari 2018.

Yanlinastuti, D. A., Fatimah, S., dan Nampira, Y. Penentuan Kadar Zirkonium dalam Paduan U-Zr Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dengan Pengompleks Arsenazo III. Jurnal disajikan dalam *Seminar Nasional SDM Teknologi Nuklir VII*. Yogyakarta: Pusat Teknologi Bahan Bakar (PTBN). Tanggal 16 November 2011.



Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian



Lampiran 2. Perhitungan Reagen

1. Pembuatan AgNO₃ 1 mM (0,001 M) dalam 500 mL

$$Mr \text{ AgNO}_3 = 170 \text{ g/mol}$$

$$a. \quad M = \frac{n \text{ (mol)}}{V \text{ (L)}}$$

$$0,001 \text{ M} = \frac{n}{0,5 \text{ L}}$$

$$n = 0,0005 \text{ mol}$$

$$b. \quad n = \frac{m \text{ (gram)}}{Mr \text{ (g/mol)}}$$

$$0,0005 \text{ mol} = \frac{m}{170 \text{ g/mol}}$$

$$m = 0,085 \text{ gram}$$

2. Pembuatan Larutan Induk Melamin 100 ppm dalam 100 mL

$$\text{ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{0,1 \text{ L}}$$

$$\text{mg} = 10 \text{ mg (0,01 g)}$$

3. Pengenceran Larutan Standar Melamin Untuk Metode NPP

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$a. \quad 0,25 \text{ ppm}$$

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 0,25 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 25 \mu\text{L}$$

$$b. \quad 1,50 \text{ ppm}$$

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 1,50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 150 \mu\text{L}$$

c. 2 ppm

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 2 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 200 \mu\text{L}$$

d. 2,5 ppm

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 2,5 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 250 \mu\text{L}$$

e. 5,0 ppm

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 5 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 500 \mu\text{L}$$

4. Tri Cloroacetate Acid (TCA) 1%

$$b/v \% = \frac{\text{gram zat terlarut (g)}}{100 \text{ mL larutan (mL)}}$$

$$1\% = \frac{\text{gram zat terlarut}}{100 \text{ mL}}$$

$$g = \frac{1}{100} \times 100 \text{ mL}$$

$$g = 1 \text{ gram (dalam 100 mL)}$$

5. Pengenceran Larutan Standar Melamin Untuk HPLC

a. 0,50 ppm

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 0,5 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 50 \mu\text{L}$$

b. 2 ppm

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 2 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 200 \mu\text{L}$$

c. 6 ppm

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 6 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 600 \mu\text{L}$$

d. 8 ppm

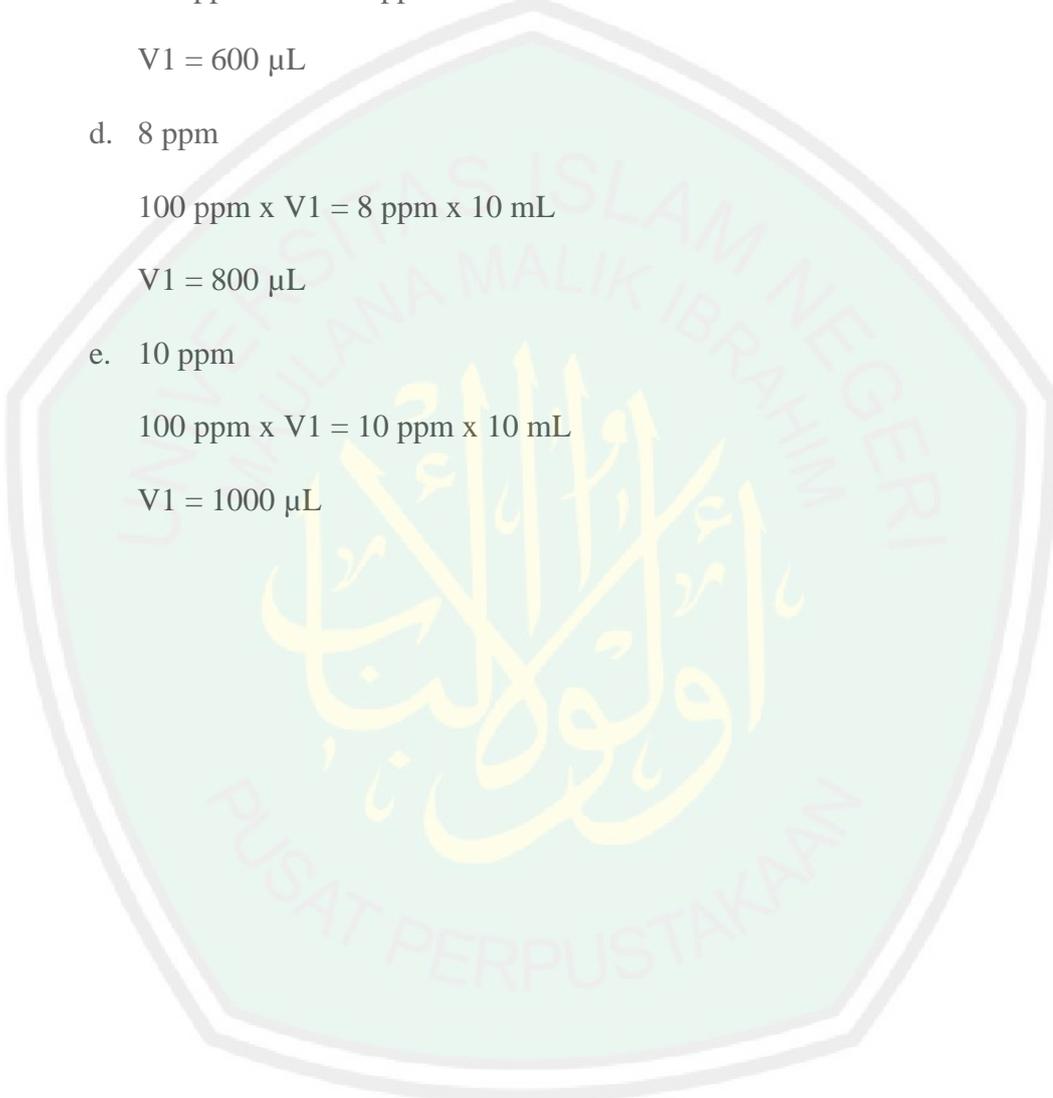
$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 8 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 800 \mu\text{L}$$

e. 10 ppm

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 1000 \mu\text{L}$$



Lampiran 3. Skema Kerja Prosedur

3.1 Metode Nanopartikel Perak dengan Bioreduktor Ekstrak Buah Kersen

3.1.1 Ekstraksi Buah Kersen

Kersen (*Muntingia calabura* L.)

- Dipilih yang berwarna merah
- Ditimbang 20 g
- Dicuci
- Dimasukkan ke dalam gelas kimia 150 mL
- Ditambahkan dengan aquades 100 mL
- Dipanaskan pada suhu 80°C selama 15 menit
- Disaring
- Ditutup dengan alumunium foil
- Diukur panjang gelombang menggunakan UV-Vis

Ekstrak Buah Kersen

3.1.2 Pembuatan AgNO₃ 1 mM

Serbuk AgNO₃ 1 mM

- Ditimbang 0,085 g
- Diencerkan dalam 500 mL labu ukur
- Ditambahkan aquades sampai tanda batas
- Dihomogenkan
- Diukur panjang gelombang menggunakan UV-Vis

Larutan AgNO₃ 1 mM

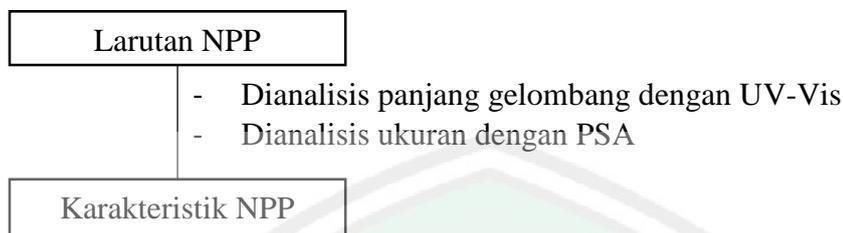
3.1.3 Pembuatan NPP dengan Ekstrak Buah Kersen

Ekstrak Buah Kersen

- Dimasukkan 5 mL ke dalam gelas kimia 100 mL
- Dicampurkan dengan AgNO₃ 1 mM tetes demi tetes
- Dipanaskan secara tidak langsung dengan panas matahari selama 1 jam
- Diukur panjang gelombang menggunakan UV-Vis

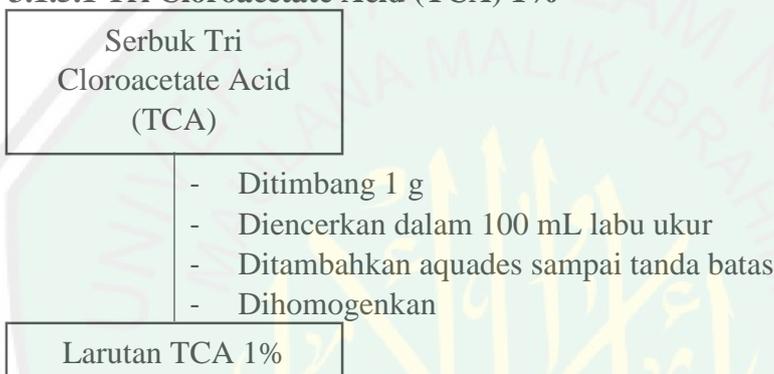
Larutan NPP

3.1.4 Karakterisasi Larutan Nanopartikel Perak

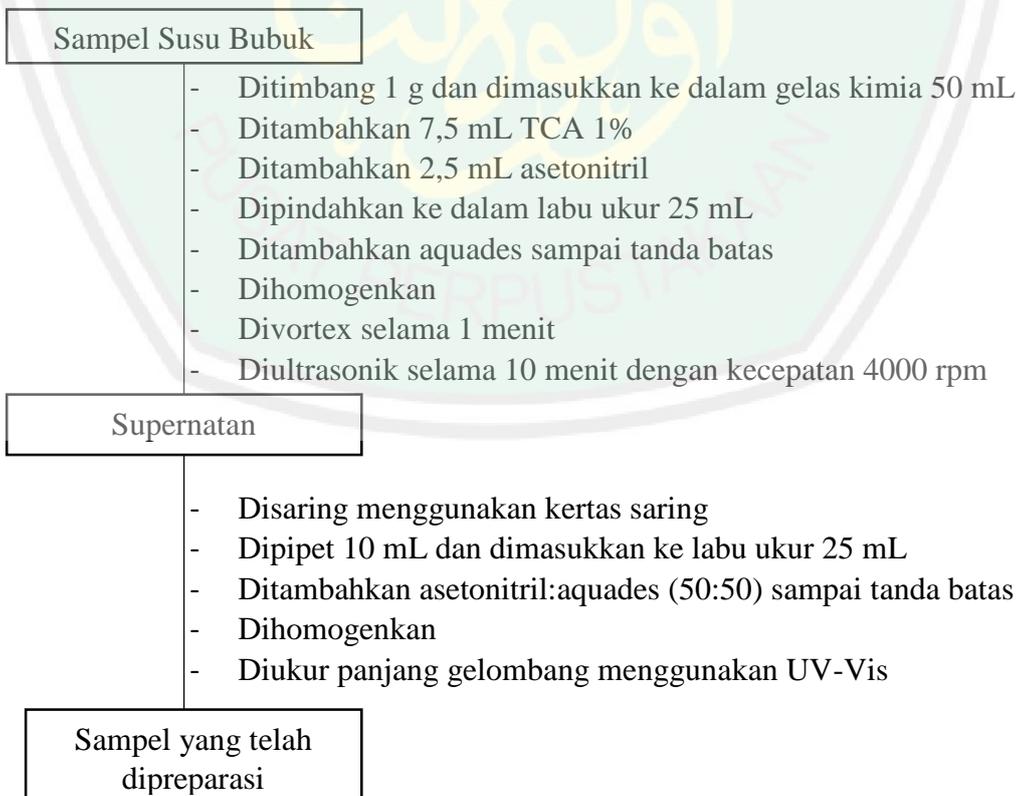


3.1.5 Preparasi Sampel Susu Bubuk Bayi

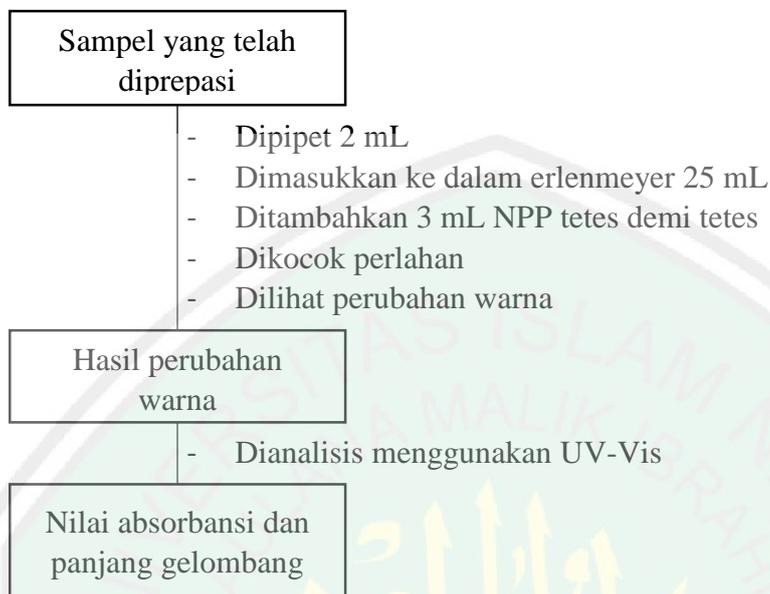
3.1.5.1 Tri Cloroacetate Acid (TCA) 1%



3.1.5.2 Preparasi Sampel

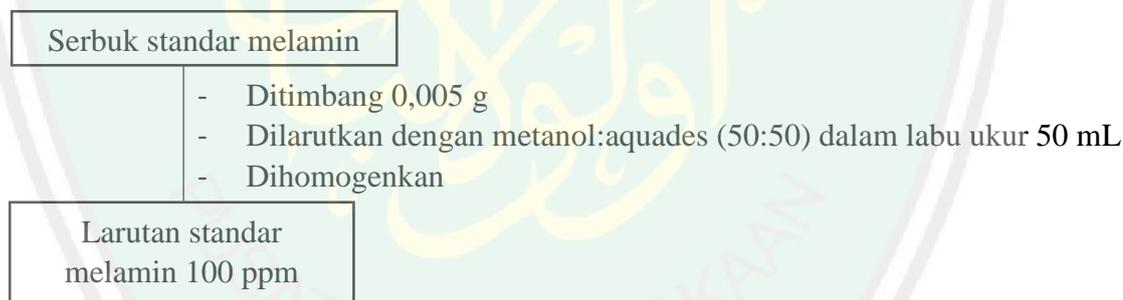


3.1.6 Aplikasi Nanopartikel Perak

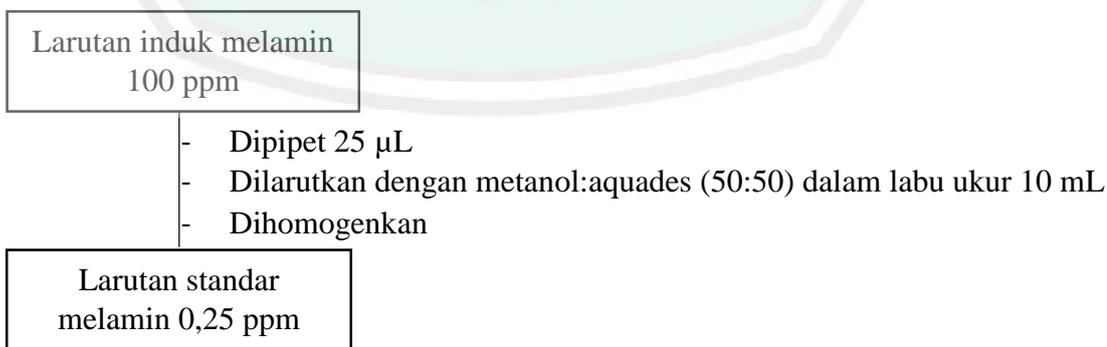


3.2 Pembuatan Larutan Standar Melamin

3.2.1 Larutan Induk Melamin 100 ppm



3.2.2 Larutan Standar Melamin 0,25 ppm



3.2.3 Larutan Standar Melamin 1,5 ppm

Larutan induk melamin 100 ppm	<ul style="list-style-type: none">- Dipipet 150 μL- Dilarutkan dengan metanol:aquades (50:50) dalam labu ukur 10 mL- Dihomogenkan
Larutan standar melamin 1,5 ppm	

3.2.4 Larutan Standar Melamin 2 ppm

Larutan induk melamin 100 ppm	<ul style="list-style-type: none">- Dipipet 200 μL- Dilarutkan dengan metanol:aquades (50:50) dalam labu ukur 10 mL- Dihomogenkan
Larutan standar melamin 2 ppm	

3.2.5 Larutan Standar Melamin 2,5 ppm

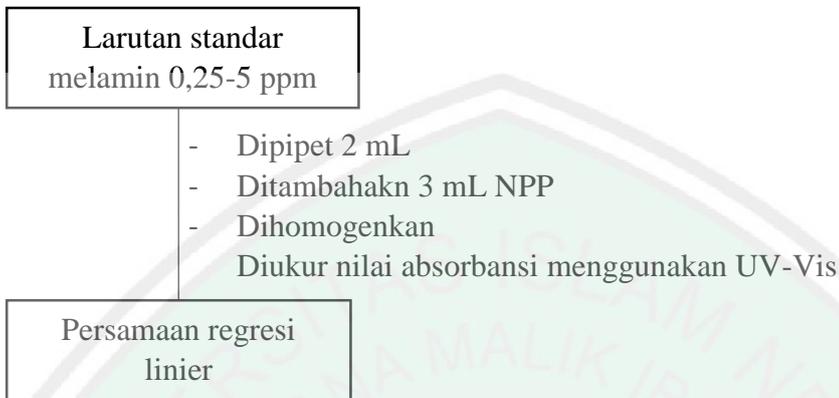
Larutan induk melamin 100 ppm	<ul style="list-style-type: none">- Dipipet 250 μL- Dilarutkan dengan metanol:aquades (50:50) dalam labu ukur 10 mL- Dihomogenkan
Larutan standar melamin 2,5 ppm	

3.2.6 Larutan Standar Melamin 5 ppm

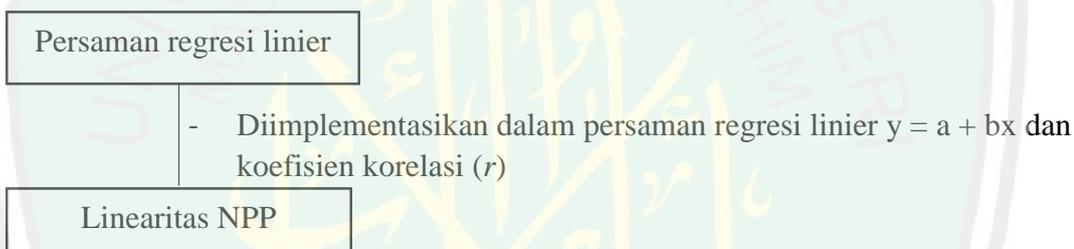
Larutan induk melamin 100 ppm	<ul style="list-style-type: none">- Dipipet 500 μL- Dilarutkan dengan metanol:aquades (50:50) dalam labu ukur 10 mL- Dihomogenkan
Larutan standar melamin 500 ppm	

3.3 Validasi Metode Analisis Menggunakan NPP

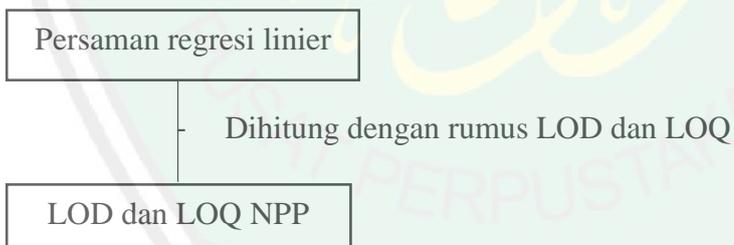
3.3.1 Kurva Baku Standar Melamin



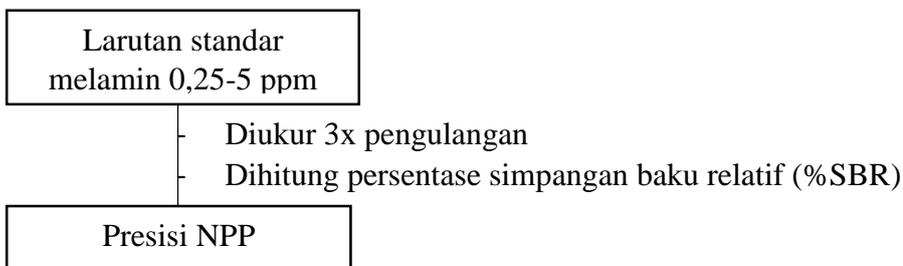
3.3.2 Uji Linearitas NPP



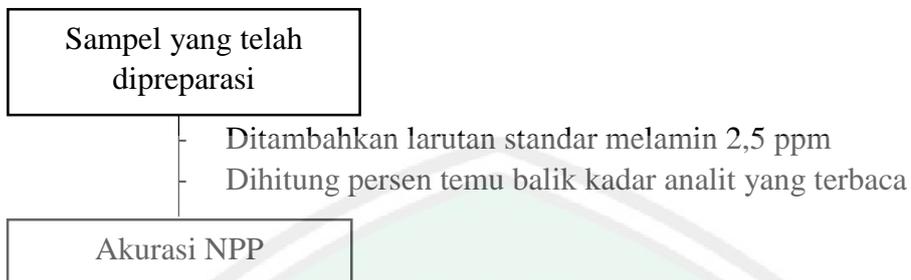
3.3.3 Uji LOD dan LOQ NPP



3.3.4 Uji Presisi NPP

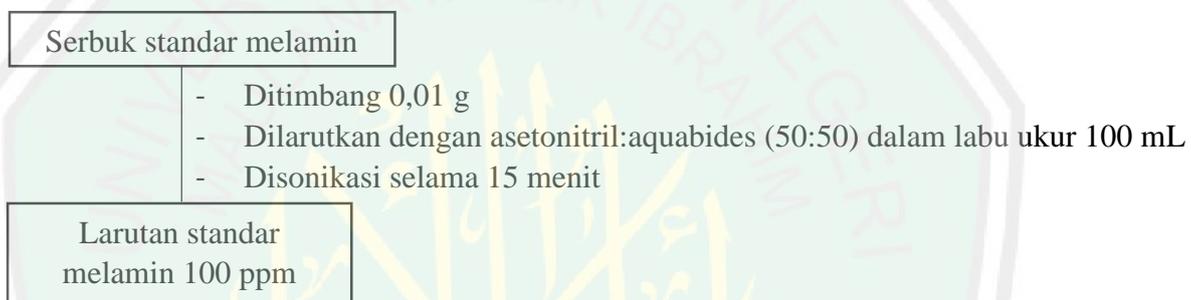


3.3.5 Uji Akurasi NPP

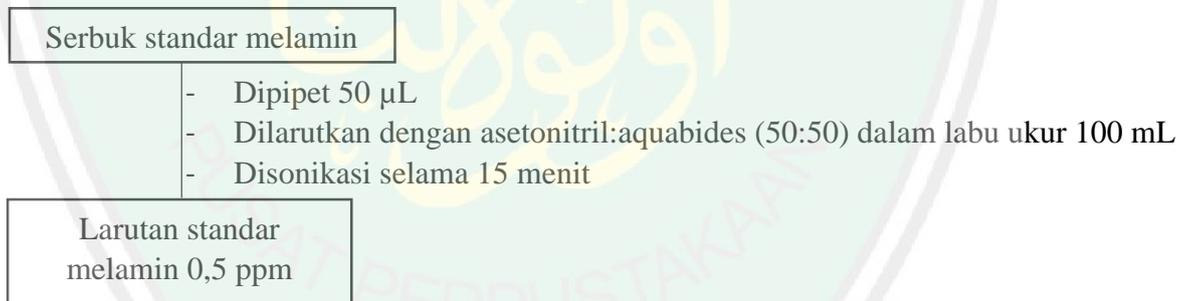


3.4 Analisis Melamin Menggunakan HPLC

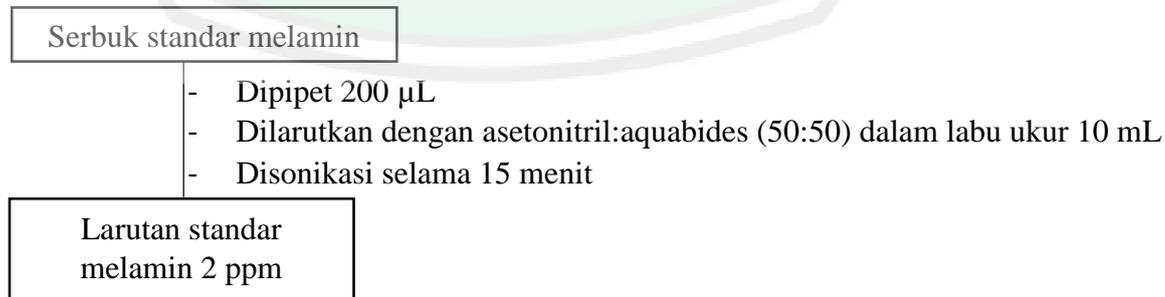
3.4.1 Pembuatan Larutan Induk Melamin 100 ppm



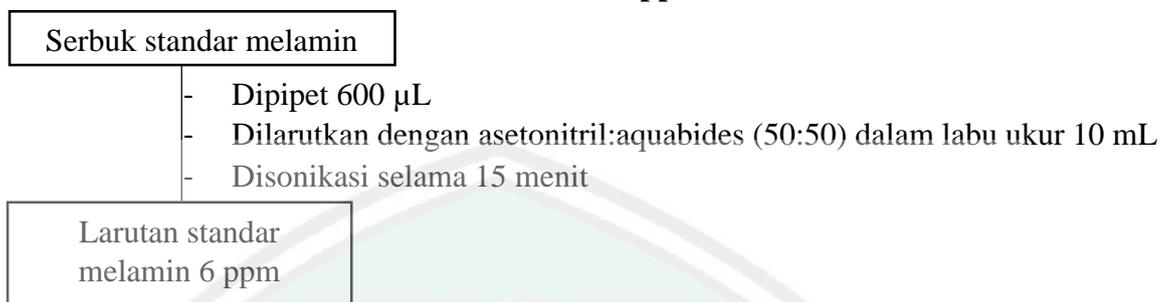
3.4.2 Pembuatan Larutan Standar Melamin 0,5 ppm



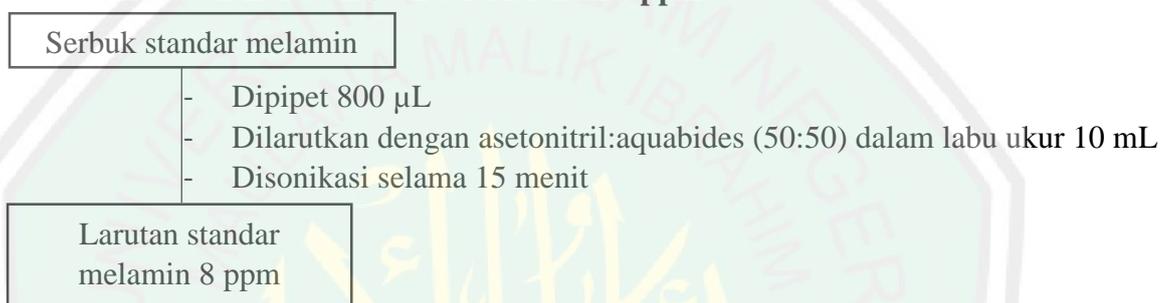
3.4.3 Pembuatan Larutan Standar Melamin 2 ppm



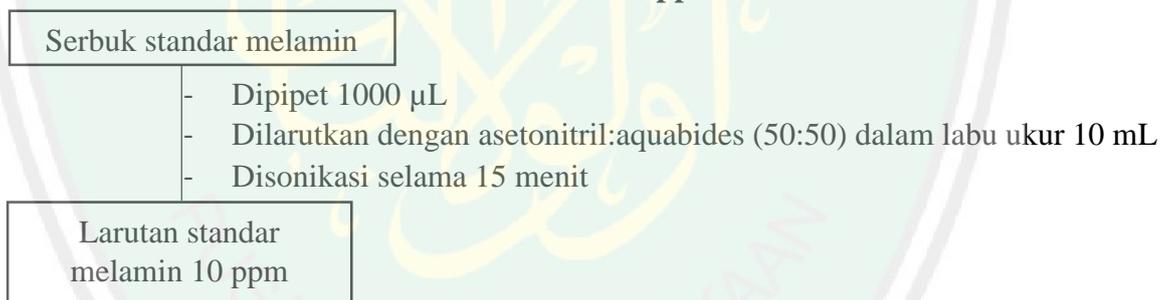
3.4.4 Pembuatan Larutan Standar Melamin 6 ppm



3.4.5 Pembuatan Larutan Standar Melamin 8 ppm

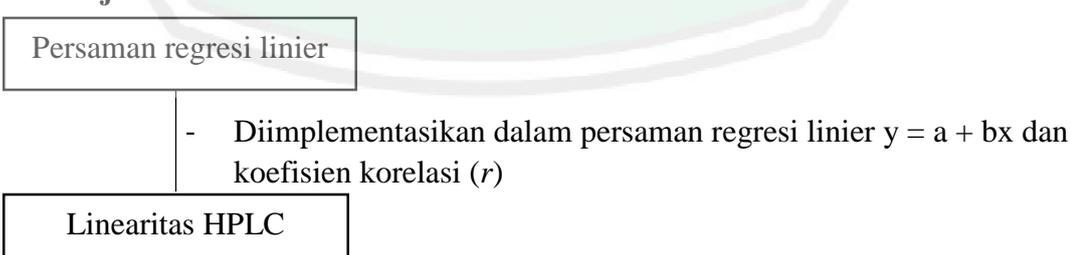


3.4.6 Pembuatan Larutan Standar Melamin 10 ppm

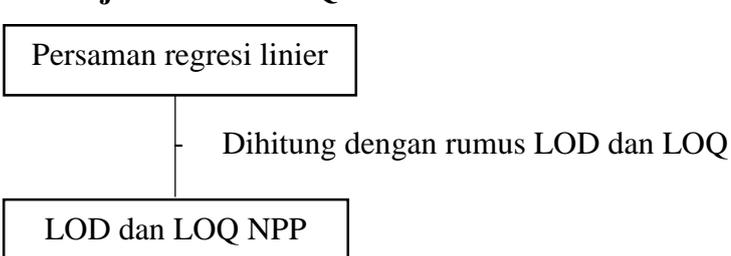


3.5 Validasi Metode Analisis Melamin Menggunakan HPLC

3.5.1 Uji Linearitas HPLC



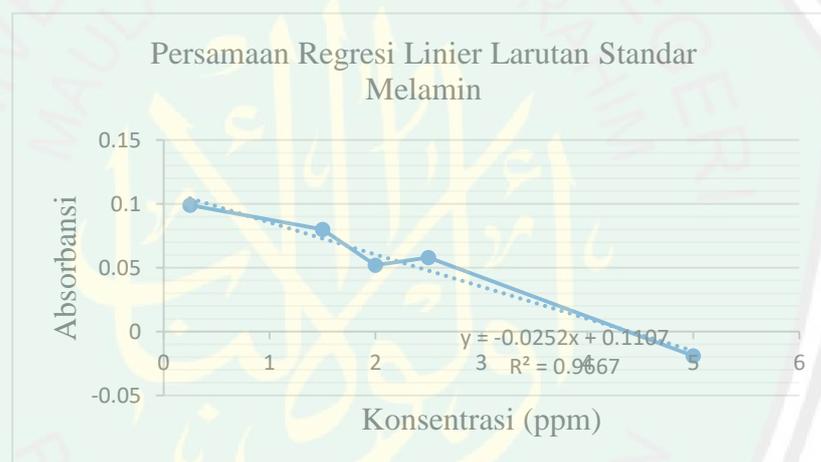
3.5.2 Uji LOD dan LOQ HPLC



Lampiran 4. Perhitungan Validasi Metode NPP

4.1 Linearitas NPP

x (konsentrasi)	y (absorbansi)
0,25	0,099
1,50	0,080
2,00	0,052
2,50	0,058
5,00	-0,019



No.	Parameter Statistika	Data Statistika
1.	Persamaan regresi linier	$y = bx + a$ (Harmita, 2004) $y = -0,0252x + 0,1107$
2.	Intersep (a)	0,1107
3.	Kemiringan garis (b)	-0,0252
4.	Koefisien korelasi (r)	0,9667

4.2 LOD dan LOQ NPP (Nafia, 2012)

Persamaan regresi: $y = -0.0252x + 0.1107$

$$a = 0,1107$$

$$b = -0,0252$$

$$\text{Rumus LOD: } \frac{3 \times SB}{\text{slope}}$$

$$\text{Rumus LOQ: } \frac{10 \times SB}{\text{slope}}$$

No.	Konsentrasi analit (ppm)	Absorbansi (y)	yi	y - yi	(y - yi) ²
1	0,25	0.099	0.1044	-0.0054	0.00002916
2	1.5	0.08	0.0729	0.0071	5.041E-05
3	2,00	0.052	0.0603	-0.0083	6.889E-05
4	2.5	0.058	0.0477	0.0103	0.00010609
5	5,00	-0.019	-0.0153	-0.0037	0.00001369
				Σ	0.00026824

$$\begin{aligned} SB &= \sqrt{\frac{\sum (y-y_1)^2}{n-2}} \\ &= \sqrt{\frac{0,00026824}{5-2}} \\ &= 0.00946 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{LOD} &= \frac{3 \times SB}{\text{slope}} \\ &= \frac{3 \times 0,00946}{0,0252} \\ &= 1,207 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{LOQ} &= \frac{10 \times SB}{\text{slope}} \\ &= \frac{10 \times 0,00946}{0,0252} \\ &= 4,024 \text{ ppm}\end{aligned}$$



4.3 Presisi NPP

Persamaan regresi: $y = -0,0252x + 0,1107$

$$b = -0,0252$$

$$a = 0,1107$$

Simpangan baku: $\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$

Keterangan: x_i = perolehan kembali ulangan ke- i

\bar{x} = rerata perolehan kembali

n = banyaknya ulangan

Simpangan Baku Relatif (SBR) (%): $\frac{100 \text{ SB}}{\bar{x}}$

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (y)	Konsentrasi yang terbaca	Rata-rata	SB	%SBR
1	0.25	0.099	0.464286	0.451058	0.02291072	5.079327881
		0.100	0.424603			
		0.099	0.464286			
2	1.50	0.081	1.178571	1.191799	0.02291072	1.922364936
		0.081	1.178571			
		0.080	1.218254			
3	2.00	0.052	2.329365	2.329365	0	0
		0.052	2.329365			
		0.052	2.329365			
4	2.50	0.058	2.091270	2.091270	0	0
		0.058	2.091270			
		0.058	2.091270			
5	5.00	-0.019	5.146825	5.146825	0	0
		-0.019	5.146825			
		-0.019	5.146825			

Presisi didapatkan dari perolehan kembali konsentrasi larutan standar dengan beberapa kali pengulangan.

Contoh perhitungan:

Konsentrasi 2,00 dengan nilai absorbansi 0,052

$$y = bx + a$$

$$y = -0,0252x + 0,1107$$

$$0,052 = -0,0252x + 0,1107$$

$$0,0252x = 0,1107 - 0,052$$

$$0,0252x = 0,0587$$

$$x = 2,329365 \text{ ppm}$$



4.4 Akurasi NPP

Persamaan regresi: $y = -0,0252x + 0,1107$

a. Respon yang diberikan sampel (R_1)

Absorbansi	Konsentrasi Sampel (b)
-0,680	29,904
-0,680	
-0,684	
Rata-rata: -0,681	

b. Respon yang diberikan standar (R_2)

Standar yang Ditambahkan	Absorbansi
2,50 ppm	-0,398
	-0,399
	-0,399
	Rata-rata: -0,399

Rumus kadar standar yang terukur dalam sampel:

$$C = S \left(\frac{R_1}{R_2 - R_1} \right)$$

Keterangan: C = kadar standar yang terukur dalam sampel

S = kadar standar yang ditambahkan pada sampel

R_1 = respon yang diberikan sampel

R_2 = respon yang diberikan campuran sampel dengan tambahan standar

$$\%TB = \frac{a-b}{c} \times 100\%$$

Keterangan: a = konsentrasi sampel + konsentrasi standar yang terukur

b = konsentrasi sampel

c = konsentrasi standar teoritis yang ditambahkan

Standar baku yang ditambahkan adalah 2,5 ppm

- Kadar standar yang terukur dalam sampel:

$$C = 2,5 \text{ ppm} \left| \frac{0,681}{0,399+0,681} \right|$$

$$= 2,5 \text{ ppm} \times 0,63$$

$$= 1,58 \text{ ppm}$$

- Konsentrasi sampel + konsentrasi standar yang terukur (a)

$$a = 29,904 \text{ ppm} + 1,58 \text{ ppm}$$

$$= 31,48 \text{ ppm}$$

- %TB = $\frac{a-b}{c} \times 100\%$

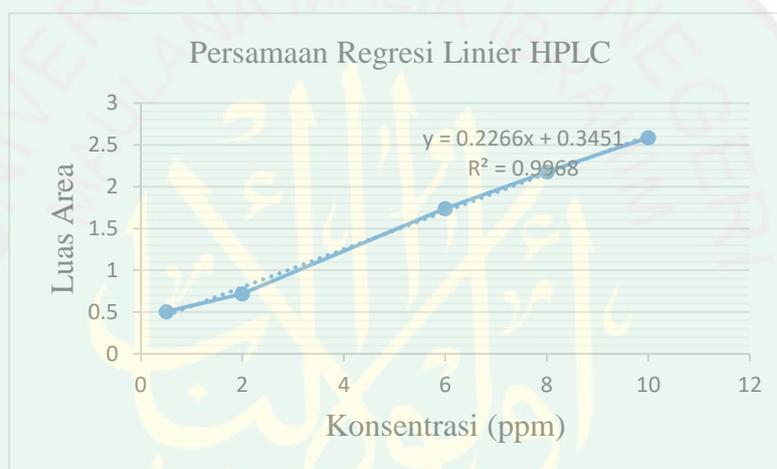
$$= \frac{31,48-29,904}{2,5} \times 100\%$$

$$= 63,04 \%$$

Lampiran 5. Perhitungan Validasi Metode HPLC

5.1 Linearitas HPLC

x (Konsentrasi)	y (Luas Area)
0,50	0,505
2,00	0,720
6,00	1,741
8,00	2,178
10,00	2,587



No.	Parameter Statistika	Data Statistik
1.	Persamaan regresi linier	$y = bx + a$ (Harmita, 2004) $y = 0,2266x + 0,3451$
2.	Intersep (a)	0,3451
3.	Kemiringan garis (b)	0,2266
4.	Koefisien korelasi (r)	0,9968

5.2 LOD dan LOQ HPLC

Persamaan regresi: $y = 0,2266x + 0,3451$

$$a = 0,3451$$

$$b = 0,2266$$

Rumus LOD: $\frac{3 \times SB}{slope}$

Rumus LOQ: $\frac{10 \times SB}{slope}$

No.	Konsentrasi Analit (ppm)	Luas Area (y)	yi	y - yi	(y - yi) ²
1	0.50	0.505	0.4584	0.0466	0.002172
2	2.00	0.720	0.7983	-0.0783	0.006131
3	6.00	1.741	1.7047	0.0363	0.001318
4	8.00	2.178	2.1579	0.0201	0.000404
5	10.00	2.587	2.6111	-0.0241	0.000581
				Σ	0.010605

$$SB = \sqrt{\frac{\sum (y - y_1)^2}{n-2}}$$

$$= \sqrt{\frac{0,010605}{5-2}}$$

$$= 0,059456$$

$$LOD = \frac{3 \times SB}{slope}$$

$$= \frac{3 \times 0,059456}{0,2266}$$

$$= 0,787146 \text{ ppm}$$

$$LOQ = \frac{10 \times SB}{slope}$$

$$= \frac{10 \times 0,059456}{0,2266}$$

$$= 2,62382 \text{ ppm}$$