

BIOSYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING KETAPANG LEAF EXTRACT, MODIFICATION WITH *p*-COUMARIC ACID FOR DETECTING MELAMINE

Biosintesis Nanopartikel Perak menggunakan Ekstrak Daun Ketapang, Modifikasi dengan Asam *p*-kumarat untuk Aplikasi Deteksi Melamin

Andi Rusnaenah*, Muhammad Zakir, Prastawa Budi

Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Hasanuddin Jl. Perintis Kemerdekaan 90245, Makassar-Indonesia

*Corresponding author, email: andiena.chem@gmail.com

Received: Nov.2016 Published: Jan. 2017

ABSTRACT

Biosynthesis of silver nanoparticles (AgNPs) using ketapang leaf extract, modification with *p*-coumaric acid for detecting melamine has conducted. This research aimed to synthesize AgNPs via bio-reduction method using ketapang leaf extract followed by modification with *p*-coumaric acid (APK), and evaluating its application detecting melamine. The AgNPs were characterized through ultraviolet-visible absorption spectroscopy (UV-Vis) and X-ray diffraction (XRD). Observation suggested that an increase of incubation time had affected its surface Plasmon resonance trend. Further analysis of crystallite via XRD suggested that nanoparticle size at 43 nm estimated using Debye-Scherrer, within the form of unit cells is cubic. The performance of product as melamine detector suggested that the AgNPs-APK had detected melamine in range of concentration from 0.1 to 1000 ppm.

Keywords: Silver nanoparticles, ketapang, *p*-coumaric acid, melamine

PENDAHULUAN

Melamin banyak menarik perhatian sejak terjadinya kasus gagal ginjal dan kematian pada hewan kucing dan anjing di Amerika Serikat di awal tahun 2007. Pada tahun 2008, kasus merebaknya susu formula tercemar melamin menyebabkan penyakit batu ginjal pada ribuan bayi di Cina (Wu dkk., 2011; Song dkk., 2014). Kasus yang terjadi di Indonesia pada tahun yang sama, susu dan produk makanan berbasis susu buatan Cina beredar luas, beberapa merek susu impor asal cina ini dinyatakan mengandung melamin antara 8.51 mg/kg (ppm) sampai 945.86 mg/kg (Rachmawati dan Widiyanti, 2013).

Melamin (1,3,5-triazina-2,4,6-triamin) adalah suatu basa organik dan trimer dari sianamida. Melamin merupakan bahan kimia industri yang digunakan secara luas dalam pembuatan resin, karena sifatnya tahan api, dan memiliki beberapa kegunaan lainnya dalam industri, diantaranya digunakan bersama formaldehida untuk memproduksi resin, plastik, dan laminasi (Liang dkk., 2011; Chen dkk., 2015). Melamin mengandung 66% nitrogen dari

total massanya, sehingga beberapa kasus dilaporkan bahwa melamin secara ilegal ditambahkan ke dalam produk susu dan makanan. Penambahan melamin ke dalam produk susu dan makanan meningkatkan kandungan nitrogen produk tersebut sehingga ketika produk diidentifikasi dengan uji protein standar seperti metode Kjeldahl, seolah-olah produk mempunyai kandungan protein yang tinggi (Liang dkk., 2011; Kumar dkk., 2016).

Beberapa metode seperti kromatografi gas/spektrofotometer massa (GC/MS), kromatografi cair/spektrofotometer massa (LC/MS), dan elektroforesis kapiler 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). Dengan demikian, diperlukan pengembangan metode analisis sederhana, cepat dan sensitif untuk memudahkan mendeteksi melamin.

Nanopartikel perak (AgNPs) merupakan salah satu nanopartikel logam yang dapat

digunakan untuk mendeteksi keberadaan melamin. Beberapa penelitian menggunakan AgNPs yang dimodifikasi dengan senyawa organik untuk mendeteksi melamin, diantaranya *p*-nitroanilin dengan limit deteksi $7,9 \times 10^{-7} \text{ mL}^{-1}$ (Han dan Li, 2010), dopamin-AgNPs dengan limit deteksi $7,9 \times 10^{-8} \text{ mL}^{-1}$ (Ma dkk., 2011), sitrat-AgNPs dengan limit deteksi $8,0 \times 10^{-11} \text{ mL}^{-1}$ (Wang dkk., 2012), sitrat-AgNPs dengan limit deteksi $2,3 \times 10^{-6} \text{ mL}^{-1}$ (Ping, dkk., 2012), α -siklodextrin-AgNPs dengan limit deteksi $3 \times 10^{-3} \text{ mgL}^{-1} \text{ mL}^{-1}$ (Ma dkk., 2013), asam kromotropik-AgNPs dengan limit deteksi $3,6 \times 10^{-8} \text{ mL}^{-1}$ (Song dkk., 2014).

Ketapang merupakan salah satu tumbuhan yang berpotensi digunakan sebagai bioreduktor dalam mensintesis AgNPs. Tumbuhan ketapang merupakan sumber daya alam terbarukan. Ketapang termasuk jenis tumbuhan tepi pantai yang tumbuh alami pada pantai berpasir atau berbatu, mampu bertahan pada daerah tropis (Chu, dkk., 2007), dapat tumbuh di tanah yang kurang nutrisi, dan tersebar hampir diseluruh wilayah Indonesia sehingga mudah untuk dibudidayakan (Riskitavani dan Purwani, 2013). Lembang (2013) melaporkan bahwa senyawa fenolik dalam ekstrak daun ketapang dapat mereduksi Ag^+ menjadi Ag^0 .

Modifikasi permukaan nanopartikel perak, umumnya menggunakan polimer, surfaktan atau ligan yang sesuai. Penggunaan senyawa organik sebagai ligan dalam modifikasi nanopartikel untuk deteksi melamin menunjukkan tingkat deteksi yang relatif lebih sensitif. Penelitian Huang, dkk., (2011), melaporkan perbandingan AgNPs termodifikasi dan tidak termodifikasi menghasilkan nilai deteksi melamin masing-masing sebesar 46.5 nM dan 41.7 nM. Adanya ligan pada permukaan nanopartikel memungkinkan terjadi interaksi dengan melamin. Interaksi seperti interaksi donor-akseptor (Han dan Li, 2010), ikatan hidrogen (Jean, dkk., 2010), dan secara elektrostatik (Ma, dkk., 2011) antara nanopartikel termodifikasi dengan melamin (Huang dkk., 2011; Song dkk., 2014).

Modifikasi AgNPs hasil bioreduksi menggunakan ekstrak daun ketapang perlu dilakukan untuk meningkatkan selektivitas AgNPs terhadap deteksi melamin secara kolorimetri (Huang, dkk., 2011). Salah satu senyawa yang berpotensi digunakan untuk

modifikasi adalah senyawa asam *p*-kumarat ($\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$). Senyawa $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$ memiliki gugus karbonil, hidroksil dan α -hidroksi fenol yang berpotensi berinteraksi dengan AgNPs dan melamin. Penelitian Song, dkk. (2014) melaporkan bahwa modifikasi asam kromotropik pada permukaan AgNPs melalui gugus hidroksil yang menandai keberhasilan modifikasi AgNPs. Oleh karena itu, penelitian sintesis AgNPs menggunakan ekstrak daun ketapang serta modifikasi material AgNP dengan asam *p*-kumarat telah dilakukan dan digunakan dalam deteksi melamin secara kolorimetri.

METODOLOGI

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa*), AgNO_3 (Merck, 99,8%), asam *p*-kumarat (Merck, 99%), metanol, melamin, dan akuabides.

Alat

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah alat gelas yang umum dalam laboratorium, oven (Gen Lab), neraca analitik (OHAUS), spektrofotometer UV-Vis (UV-2600), *X-ray diffraction* (Shimadzu 7000), pH meter, botol semprot, dan sendok tanduk.

Prosedur Kerja

Ekstrak sampel (0,25 g/mL) sebanyak 0,2 mL ditambahkan ke dalam 50 mL larutan AgNO_3 1 mM pada suhu 30°C . Koloid AgNPs disentrifuse pada kecepatan 10.000 rpm selama 30 menit. Endapan AgNPs dikarakterisasi menggunakan FTIR, dan XRD. Modifikasi APK-AgNPs dibuat dengan menambahkan 0,2 mL ekstrak sampel ke dalam 50 mL larutan AgNO_3 1 mM. Setelah itu, ditambahkan 2 mL asam *p*-kumarat 1 mM.

Analisis UV-Vis terhadap koloid AgNPs dilakukan pada suhu ruang menggunakan spektrofotometer UV-2600 (Shimadzu) pada resolusi 0.5 nm. Ekstrak sebelum dan larutan hasil setelah reaksi dikeringkan pada suhu 60°C , dan biomassa kering dianalisis menggunakan spektrofotometer FTIR (IRPrestige-21). Koloid AgNPs hasil sintesis disentrifuse pada kecepatan 10,000 rpm selama 30 menit. Hasil sentrifuse berupa padatan dikumpulkan dan dikeringkan pada suhu 60°C untuk analisis XRD. Analisis

XRD dilakukan menggunakan difraktometer XRD Rigaku MiniFlex pada arus 40 mA dan beda potensial 45 kV dengan radiasi $\text{CuK}\alpha$ untuk mengonfirmasi bentuk kristal nanopartikel perak.

Analisis melamin dilakukan dengan menambahkan koloid APK-AgNP pada masing-masing larutan melamin konsentrasi 0,1, 1, 10, 100, dan 1000 ppm. Selanjutnya, masing-masing campuran diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesis Nanopartikel Perak

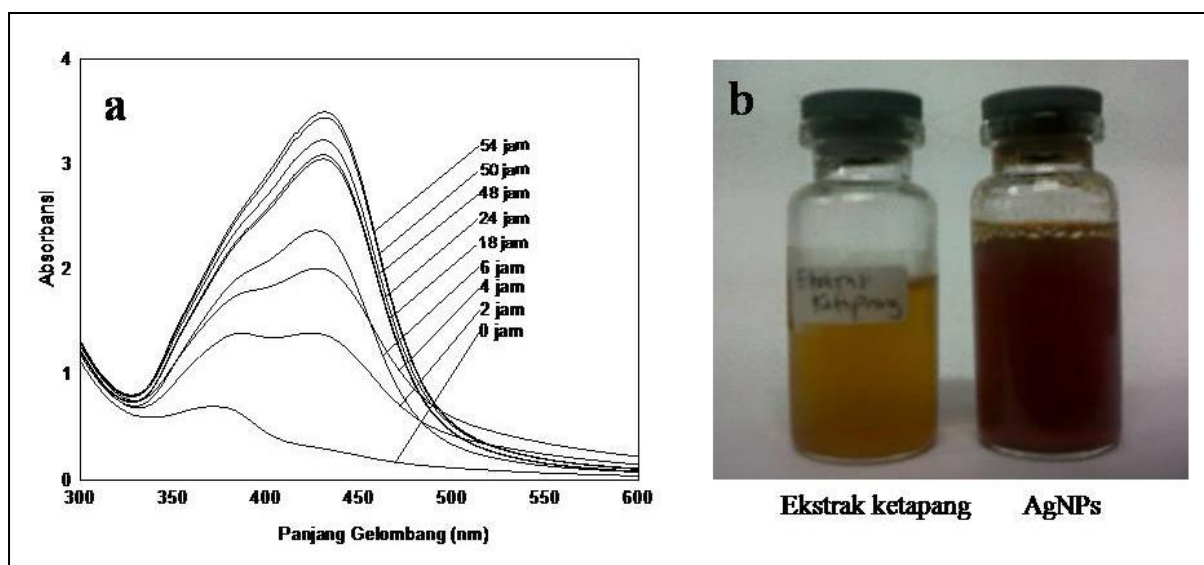
Pertumbuhan Nanopartikel perak (AgNPs) diamati menggunakan spektrofotometer UV-Vis berdasarkan pita serapan *Surface Plasmon Resonance* (SPR). Pita SPR merupakan kumpulan osilasi terhadap elektron konduksi (wiley, dkk., 2006).

Spektroskopi UV-Vis dapat digunakan untuk mengamati pertumbuhan nanopartikel

permukaan nanopartikel perak sehingga pita serapan SPR akan muncul pada daerah sekitar 430 nm yang berhubungan dengan frekuensi getaran Plasmon (Willets, 2007). Kumpulan oskilasi elektron dapat diamati dari perubahan warna larutan dari kuning menjadi coklat gelap (Gambar 1b) mengindikasikan adanya sebaran partikel AgNPs dalam larutan.

Analisis Fasa Kristal menggunakan XRD

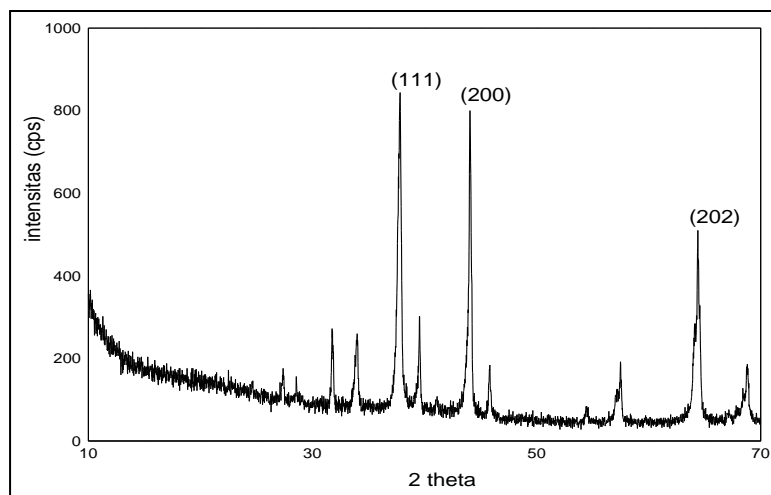
Untuk mengonfirmasi fasa kristal AgNP dilakukan analisis pola *X-ray diffraction* (XRD). Karakteristik puncak yang diamati pada pola XRD terhadap nanopartikel yang dihasilkan melalui reduksi AgNO_3 1 mM menggunakan ekstrak daun ketapang 0,25 g/mL pada suhu 30 °C mengonfirmasi adanya nanopartikel perak (Gambar 2). Puncak difraksi pada sudut 37.73° , 44.03° , dan 64.37° masing-masing sesuai dengan bidang (111), (200), dan (202) perak. Pola difraksi dengan indeks miller (111) sesuai dengan sistem kristal kubik AgNP (Zakir, dkk.



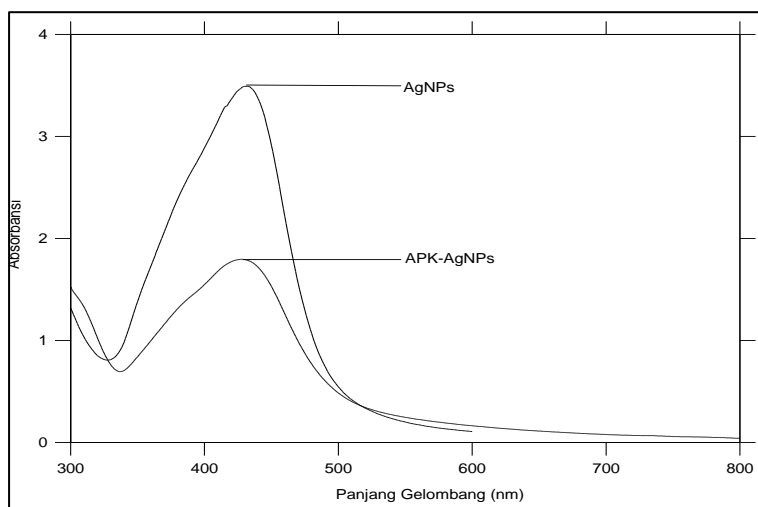
Gambar 1 Spektra UV-Vis AgNPs (a) hasil reduksi $[\text{AgNO}_3]$ 1 mM dengan ekstrak daun ketapang 0,25 g/mL, (b) Perubahan warna koloid AgNPs setelah waktu reaksi 54 jam.

perak. Pada Gambar 1a, menunjukkan perubahan pola intensitas serapan SPR selama waktu reaksi. Puncak SPR yang khas sekitar 430 nm sesuai untuk karakter SPR AgNP (Zakir, dkk., 2014). Nilai SPR ini relatif seperti yang dilaporkan Rajakannu, dkk. (2015) yang menunjukkan nilai serapan SPR AgNP pada 430 nm. Adanya kumpulan osilasi elektron pada permukaan logam menyebabkan eksitasi getaran Plasmon

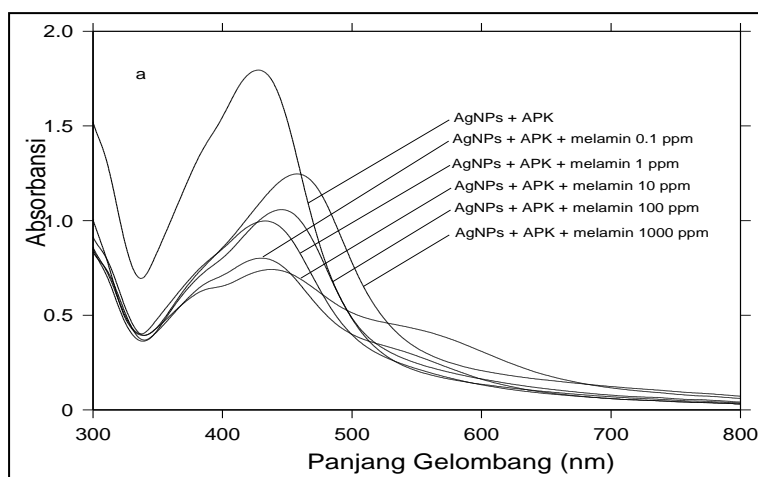
(111) mengindikasikan fasa kristal AgNP. Perkiraan ukuran partikel perak dapat dihitung dari persamaan *Debye-Scherer* (Ahmad, dkk., 2010) dengan menentukan lebar terhadap indeks refleksi Bragg (111). Berdasarkan perhitungan menggunakan persamaan tersebut diperoleh estimasi ukuran partikel sebesar 43,33 nm.



Gambar 4 Pola XRD AgNPs



Gambar 3 Pola SPR AgNPs dan APK-AgNPs



Gambar 2 Pola SPR AgNPs dan APK-AgNPs

Modifikasi AgNPs dengan asam *p*-kumarat

Modifikasi AgNPs dilakukan dengan menggunakan larutan asam *p*-kumarat (APK). Pemilihan senyawa APK didasarkan pada gugus fungsi karbonil, hidroksil, dan hidroksi fenol yang berpotensi berinteraksi dengan AgNPs dan melamin. Larutan APK 1 mM dengan volume 1 mL ditambahkan ke dalam larutan AgNP hasil sintesis dengan waktu pengadukan selama 2 jam (Song, dkk., 2014). Pengukuran nilai SPR dilakukan setelah waktu ke-54 jam untuk memonitor pertumbuhan AgNPs berdasarkan modifikasi dengan APK (Gambar 3). Perbandingan nilai serapan SPR AgNPs dan APK-AgNPs menunjukkan adanya penurunan intensitas serapan dari 3,492; $\lambda=431$ nm menjadi 1,795; $\lambda=428$ nm. Adanya senyawa APK yang berperan sebagai ligan menyebabkan terjadi penurunan intensitas serapan SPR sebelum dan setelah modifikasi (Ma, dkk, 2011).

Aplikasi APK-AgNP dalam mendeteksi melamin

Interaksi cahaya dengan nanopartikel logam memberikan suatu hal yang menarik. Salah satu aplikasi dari interaksi ini digunakan untuk aplikasi deteksi secara kimia dan biologi. Prinsip deteksi ini didasarkan pada cahaya yang dilokalisasi, dimanipulasi dan dikuatkan dalam skala nanometer melalui eksitasi kumpulan osilasi elektron dalam nanopartikel logam yang dikenal dengan *localized surface Plasmon resonance* (LSPR).

Pengujian terhadap deteksi melamin oleh APK-AgNPs dilakukan melalui penambahan melamin ke dalam koloid nanopartikel dan mengamati puncak serapan terhadap perubahan warna sistem (Wu, dkk., 2011). Melamin dengan konsentrasi 0.1; 1; 10; 100; 1000 ppm, masing-masing ditambahkan ke dalam APK-AgNPs dan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada daerah λ 300–800 nm. Pendeteksian melamin ditandai dengan menurunnya serapan SPR terhadap APK-AgNP setelah ditambahkan melamin berbagai konsentrasi (Gambar 4) yang ditandai dengan perubahan warna dari kuning muda menjadi kuning kecoklatan. Hal ini dapat disebabkan oleh agregasi yang terjadi pada nanopartikel setelah ditambahkan suatu analit seperti melamin (Shang, dkk., 2013; Song, dkk., 2014; Ma, dkk., 2011).

KESIMPULAN

Nanopartikel perak dapat disintesis menggunakan ekstrak kulit buah manggis dan dapat dimodifikasi dengan asam *p*-kumarat. Waktu inkubasi berpengaruh terhadap hasil sintesis nanopartikel perak. Ukuran nanopartikel perak yang dihasilkan berdasarkan estimasi perhitungan dengan persamaan *Debye-Scherrer* adalah 43,33 nm dengan bentuk kubik. Serapan SPR nanopartikel perak berada pada daerah 430 nm. Nanopartikel perak hasil modifikasi dengan asam *p*-kumarat memiliki sensitifitas terhadap melamin konsentrasi 0.1–1000 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, N., Sharma, S., Alam, Md.K., Singh, V.N., Shamsi, S.F., Mehta, B.R., dan Fatma, A. 2010. Rapid Synthesis of Silver Nanoparticle using Dried Medicinal Plant of Basil. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*. 81: 81-86.
- Chen, N., Cheng, Y., Li, C., Zhang, C., Zhao, K. dan Xian, Y. 2015. Determination of Melamine in Food Contact Materials using an Electrode Modified with Gold Nanoparticles and Reduced Graphene Oxide. *Microchim. Acta*. 182: 1967-1975.
- Han, C.P. dan Li, H.B. 2010. Visual Detection of Melamine in Infant Formula at 0.1 ppm Level Based on Silver Nanoparticles. *Analyst*. 135: 583-588.
- Huang, H., Li, L., Zhou, G., Liu, Z., Feng, Y., Zeng, G., Tinnefeld, P., Ma, Q. dan He, Z. 2011a. Visual detection of melamine in milk samples based on label-free and labeled gold nanoparticles. *Talanta*. 85: 1013-1019.
- Jean, R.D., Chiu, K.C., Chen, T.H., Chen, C.H. dan Liu, D.M. 2010. Functionalized Silica Nanoparticles by Nanometallic Ag Decoration for Optical Sensing of Organic Molecule. *J. Phys. Chem. C*. 114: 15633-15639.
- Kumar, N., Harish, K., Bimlesh, M., dan Raman, S., 2016, Colorimetric Determination Of Melamine In Milk Using Unmodified Silver Nanoparticles, *Spectrochim. Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 156, 89-97.
- Lembang, E. Y., Maming, Zakir, M., 2013, *Sintesis Nanopartikel Perak dengan Metode Reduksi Menggunakan Bioreduktor Ekstrak*

- Daun Ketapang (Terminalia catappa)*, Repository, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Liang, X., Wei, H., Cui, Z., Deng, J., Zhang, Z., You, X. dan Zhang, X.E. 2011. Colorimetric Detection of Melamine in Complex Matrices Based on Cysteamine-Modified Gold Nanoparticles. *Analyst*. 136: 179-183.
- Ma, P., Liang, F., Sun, Y., Jin, Y., Chen, Y., Wang, X., Zhang, H., Gao, D., Song, D. 2013. Rapid determination of melamine in milk and milk powder by surface-enhanced Raman spectroscopy and using cyclodextrin-decorated silver nanoparticles. *Microchim. Acta*. 180:1173-1180
- Ma, Y.R., Niu, H.Y., Zhang, X.L. dan Cai, Y.Q. 2011. One-step Synthesis of Silver/dopamine Nanoparticles and Visual Detection of Melamine in Raw Milk. *Analyst*. 136: 4192-4196.
- Ping, H., Zhang, M.W., Li, H.K., Li, S.G., Chen, Q.S., Sun, C.Y. dan Zhang, T.H. 2012. Visual Detection of Melamine in Raw Milk by Label-free Silver Nanoparticles. *Food Control*. 23: 191-197.
- Rachmawati dan Widiyanti, 2013, Kadar Melamin pada Produk Berbahan Susu dan Susu Bubuk yang Dianalisis Secara Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS). *JITV*. 18 (1):63-69
- Rajakannu, S., Shankar, S., Perumal, S., Subramanian, S., dan Dhakshinamoorthy, G.P. 2015. Biosynthesis of Silver Nanoparticles using *Garcinia mangostana* Fruit Extract and their Antibacterial, Antioxidant Activity, *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*. 4(1), 944-952.
- Riskitavani, D.V. dan Purwani, K.I. 2013. Studi Potensi Bioherbisida Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa*) terhadap Gulma Rumput Teki (*Cyperus rotundus*). *J. Sains & Seni Pomits*. 2(2): 2337-3520.
- Shang, Y., Gao, D., Wu, F. dan Wan, X. 2013. Silver Nanoparticle Capped with 8-hydroxyquinoline-5-sulfonate for the Determination of Trace Aluminium in Water Samples and for Intracellular Fluorescence Imaging. *Microchim. Acta*. 180: 1317-1324.
- Song, J., Wu, F., Wan, Y. dan Ma, L.H. 2014. Visual Test for Melamine using Silver Nanoparticles Modified with Chromotropic Acid. *Microchim. Acta*. 181: 1267-1274.
- Wang, W.N., Tarafdar, J.C. dan Biswar, P. 2013. Nanoparticle Synthesis and Delivery by an Aerosol Route for Watermelon Plant Foliar Uptake. *J. Nanopart. Res.* 15(1417): 1-13..
- Wiley, B.J., Im, S.H., Li, Z.Y., McLellan, J., Siekkinen, A. dan Xia, Y. 2006. Maneuvering the Surface Plasmon Resonance of Silver Nanostructure through Shape-Controlled Synthesis. *J. Phys. Chem. B*. 110: 15666-15675.
- Willets, K.A., Hall, W.P., Sherry, L.J., Zhang, X., Zhao, J. dan Dwyne, R.P.V. 2007. Nanoscale Localized Surface Plasmon Resonance Biosensors. *Nanobiotech. II*. 159-173.
- Wu, Z., Zhao, H., Xue, Y., Cao, Q., Yang, J., He, Y., Li, X., dan Yuan, Z., 2011, Colorimetric Detection of Melamine during the Formation of Gold Nanoparticles, *Biosens. Bioelectron.*, 26: 2574-2578.
- Zakir, M., Maming, Lembang, E.Y. dan Lembang, M.S. 2014. Synthesis of Silver and Gold Nanoparticles through Reduction Method using Bioreductor of Leaf Extract of Ketapang (*Terminalia catappa*). *Int. Con. Adv. Mater. & Prac. Nanotech.* Jakarta.