



**PENGEMBANGAN SENSOR ANTIOKSIDAN BERBASIS  
KERTAS (*PAPER MICROZONE PLATES*) DENGAN  
REAGEN ABTS**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**Hildawati Ilham**

**NIM 142210101040**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2018**



**PENGEMBANGAN SENSOR ANTIOKSIDAN BERBASIS  
KERTAS (*PAPER MICROZONE PLATES*) DENGAN  
REAGEN ABTS**

**SKRIPSI**

diajukan guna memenuhi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Strata Satu Fakultas Farmasi dan mencapai gelar Sarjana  
Farmasi

Oleh:

**Hildawati Ilham**

**NIM 142210101040**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2018**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Siti Nurhidayah dan Ayahanda Sabiq Tabib yang tercinta, serta saudaraku Rohmah Sabiq yang telah mencurahkan segala kasih sayang, pengorbanan, dan selalu mendoakan yang terbaik untukku
2. Bapak Moch. Amrun Hidayat, terima kasih telah memberikan bantuan berupa bahan, alat, serta bimbingan-bimbingan dengan segala perhatian demi kelancaran penelitian. Ibu Indah Yulia Ningsih dan Bapak Bawon Triatmoko, terimakasih atas segala bimbingan, saran, dan nasihat yang telah diberikan hingga terselesaikannya skripsi ini. Bapak Bambang Kuswandi dan Bapak Dwi Koko Pratoko, terima kasih telah meluangkan waktunya untuk menguji hingga terselesaikannya skripsi ini
3. Teman-teman seperjuangan Rizka Illa dan Alfiatur, terimakasih atas bantuan, dorongan, dan semangat selama kebersamaan dalam melakukan penelitian
4. Sahabat-sahabatku Mia, Tya, Lisa, Frisda, Nadia Rosi, Aries, Finda, Naisyiah, teman seperantauan Mita, semua teman kos tercinta, teman-teman Laboratorium Biologi Farmasi, terima kasih atas dukungan, nasihat, semangat, dan bantuannya
5. Teman-teman MPA Pring Kuning 2014 dan Farmasi Angkatan 2014 yang telah menemaniku untuk berproses menjadi seseorang yang lebih baik
6. Guru-guruku di SDN Purworejo 2, SMPN 2 Blitar, SMAN 1 Srengat, Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah menyalurkan ilmunya
7. Almamater tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember

**MOTTO**

Tidak ada daya upaya dan tidak ada kekuatan,  
kecuali dengan pertolongan Allah  
(Laa haula wa laa quwwata illaa billaah)

Jika kamu tidak mengejar apa yang kamu inginkan, maka kamu tidak akan mendapatkannya. Jika kamu tidak bertanya maka jawabannya adalah tidak. Jika kamu tidak melangkah maju, kamu akan tetap berada di tempat yang sama  
(Nora Roberts)

Rumpun bambu terkuat tumbuh di atas tanah yang keras  
(MPA Pring Kuning)

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Hildawati Ilham

NIM : 142210101040

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: *Pengembangan Sensor Antioksidan Berbasis Kertas (Paper Microzone Plates) dengan Reagen ABTS* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada instansi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 19 Juli 2018

Yang menyatakan,

Hildawati Ilham

NIM 142210101040

**SKRIPSI**

**PENGEMBANGAN SENSOR ANTIOKSIDAN BERBASIS KERTAS (*PAPER  
MICROZONE PLATES*) DENGAN REAGEN ABTS**

Oleh

**Hildawati Ilham**

**NIM 142210101040**

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Indah Yulia Ningsih, S. Farm., M. Farm., Apt

Dosen Pembimbing Anggota : Bawon Triatmoko, S. Farm., MSc., Apt.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Pengembangan Sensor Antioksidan Berbasis Kertas (*Paper Microzone Plates*) Dengan Reagen ABTS” telah diuji dan disahkan pada :

Hari : Kamis

Tanggal : 19 Juli 2018

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing,

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Indah Yulia N., S.Farm., M.Farm., Apt.

NIP 198407122008122002

Bawon Triatmoko, S.Farm., MSc., Apt.

NIP 198201292009121003

Tim Penguji,

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Prof. Drs. Bambang Kuswandi, MSc., PhD.

NIP 196902011994031002

Dwi Koko Pratoko., S.Farm., MSc., Apt.

NIP 198504282009121004

Mengetahui,

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Lestyo Wulandari, S. Si., Apt., M. Farm.

NIP 197604142002122001



## RINGKASAN

**Pengembangan Sensor Antioksidan Berbasis Kertas (*Paper Microzone Plates*) Dengan Reagen ABTS;** Hildawati Ilham; 142210101040; 2018; 61 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Antioksidan penting dalam tubuh untuk meminimalkan kerusakan oksidatif yang berasal dari radikal bebas yang dapat menyebabkan beberapa penyakit *age related*, terutama kanker dan gangguan neuro degeneratif. Aktivitas antioksidan dapat menurun jika jumlah radikal bebas berlebihan, oleh karena itu diperlukan antioksidan eksogen (berasal dari bahan pangan yang dikonsumsi) dalam jumlah yang lebih banyak (Astuti, 2008). Tanaman obat mengandung berbagai senyawa fitokimia seperti fenol, flavonoid, vitamin, tanin, dan banyak diantaranya memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Kumar dkk., 2013), namun informasi ilmiah tentang aktivitas antioksidan tanaman obat belum banyak ditemukan. Untuk mencari antioksidan alami, pengujian tanaman obat masih diperlukan (Cholisoh dan Utami, 2008).

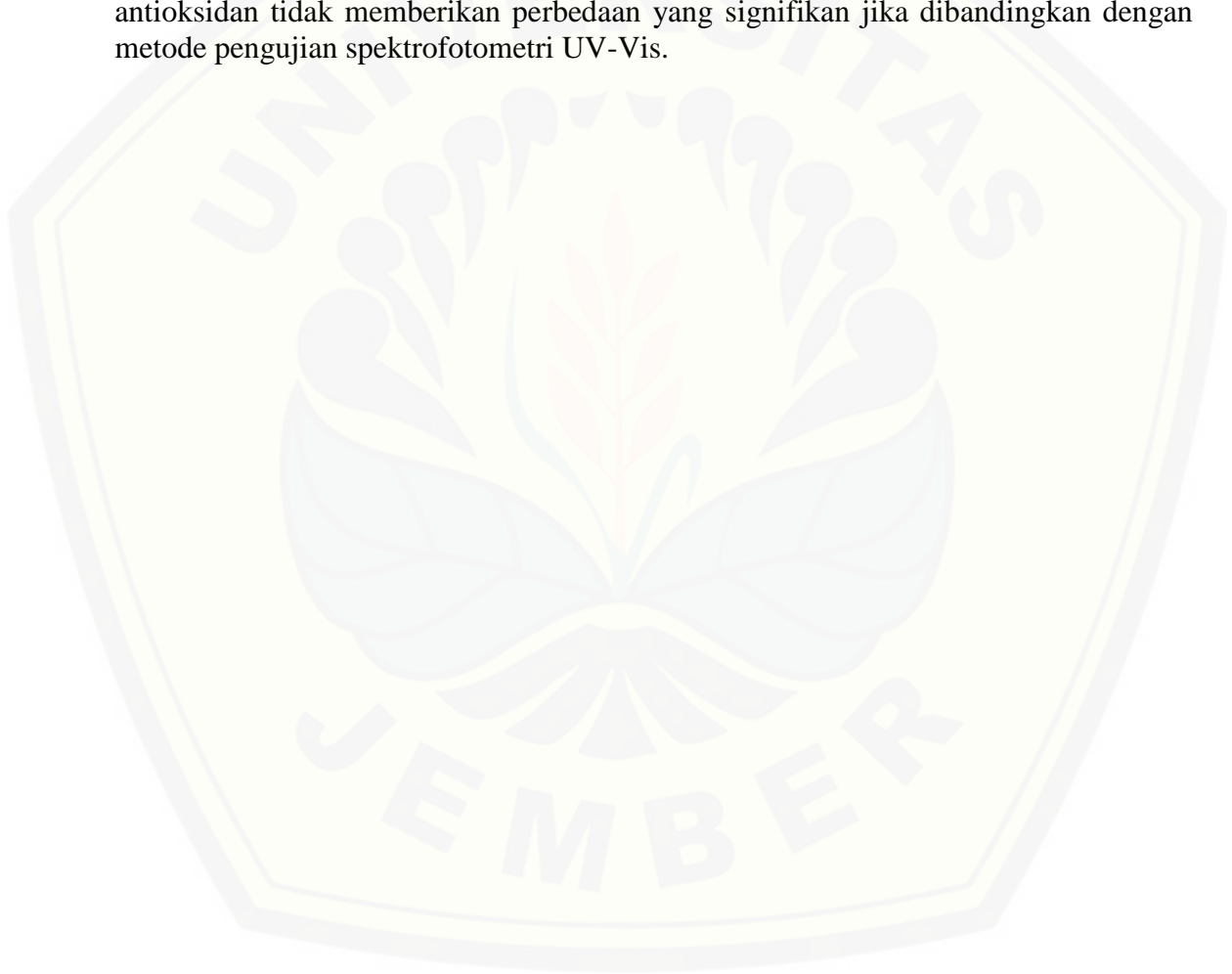
Salah satu pengujian antioksidan yaitu menggunakan metode ABTS. Pengujian antioksidan dengan metode ABTS dapat menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) ataupun spektrofotometri. Namun, metode KCKT dan spektrofotometri memiliki kekurangan yaitu peralatan yang digunakan cukup mahal, waktu analisis yang lama, dan memerlukan personil yang berkualitas (Pisoschi dan Negulescu, 2011; Gani dkk., 2015). Berdasarkan hal tersebut, diperlukan alternatif pengujian antioksidan yang cepat, mudah, dan murah, yaitu salah satunya menggunakan sensor. Sensor diartikan sebagai alat yang memiliki kemampuan mengubah suatu energi menjadi energi yang lain, seperti pada sensor kimia.

Dalam penelitian ini, sensor kimia yang dikembangkan adalah sensor kimia berbasis reagen ABTS. Tahapan penelitian yang dilakukan adalah fabrikasi sensor antioksidan, karakterisasi sensor antioksidan, dan membandingkan metode sensor antioksidan dengan metode spektrofotometer UV-Vis. Fabrikasi sensor antioksidan dilakukan dengan mengimobilisasi campuran reagen ABTS dan kalium persulfat pada kertas sebanyak 3  $\mu\text{L}$ , kemudian dikeringkan dengan *hair dryer* selama  $\pm 2$  menit. Kondisi analisis yang dioptimasi yaitu volume reagen ABTS dan konsentrasi reagen ABTS. Kondisi optimal sensor antioksidan yang digunakan adalah volume reagen 3  $\mu\text{L}$  dan konsentrasi reagen ABTS 14 mM.

Karakterisasi sensor antioksidan meliputi pengukuran waktu respon, uji linieritas, penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ), uji presisi, uji akurasi, uji selektivitas, dan pengukuran waktu pakai. Hasil penelitian menghasilkan waktu respon pada 8 menit, uji linieritas berada pada rentang 0,1-1mM dengan nilai



koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,997 dan nilai  $V_{x_0}$  sebesar 1,255%. Batas deteksi sensor antioksidan adalah 0,035 mM QE dan batas kuantifikasi adalah 0,104 mM QE. Uji presisi memberikan hasil yang presis dengan nilai RSD sebesar 1,679 %. Uji akurasi memberikan hasil yang akurat sebesar 96,587 % untuk ekstrak daun jambu merah; 97,422 % untuk ekstrak daun jambu putih; 102,211 % untuk ekstrak kayu secang; dan 101,284 % untuk ekstrak rimpang kunyit. Deteksi aktivitas antioksidan akan terganggu dengan adanya sukrosa, amilum, dan nipagin. Sensor antioksidan stabil selama 2 jam pada penyimpanan suhu 25°C dan 2 hari pada penyimpanan suhu 4°C. Pengukuran aktivitas antioksidan berdasarkan perubahan intensitas warna yang terjadi setara dengan milimolar kuersetin ekuivalen (mM QE). Metode sensor antioksidan tidak memberikan perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan metode pengujian spektrofotometri UV-Vis.



## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengembangan Sensor Antioksidan Berbasis Kertas (*Paper Microzone Plates*) Dengan Reagen ABTS”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata 1 (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Ibu Lestyo Wulandari, S. Si., Apt., M. Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan tugas akhir ini;
2. Bapak Moch. Amrun Hidayat, S. Si., M. Farm., Apt. yang telah membantu dan membimbing, serta memberi masukan demi kelancaran penelitian skripsi ini;
3. Ibu Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm., Apt. dan Bapak Bawon Triatmoko, S. Farm., MSc., Apt. selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatiannya dalam membimbing dan memberi pengarahan sehingga terselesaikannya penulisan skripsi ini;
4. Bapak Prof. Drs. Bambang Kuswandi, MSc., PhD. dan Bapak Dwi Koko Pratoko, S. Farm., MSc., Apt. selaku Dosen Penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Orang tua tercinta Ibunda Siti Nurhidayah, Ayahanda Sabiq Tabib, dan adik Rohmah Sabiq yang senantiasa memberi doa, kasih sayang, semangat, dan motivasi yang tak terhingga untuk mengiringi perjalanan hidup penulis;
6. Mbak Parka dan Bu Widi selaku teknisi Laboratorium Bagian Biologi Farmasi atas saran dan bantuan yang telah diberikan selama mengerjakan penelitian;
7. Teman-teman seperjuangan, Rizka Illa dan Alfiatur yang telah memberikan dukungan, bantuan, dan semangat selama mengerjakan penelitian bersama;

8. Sahabat-sahabat “Bidadari Surga”, Mia, Tya, Lisa, Frisda, dan Nadia Rosi yang telah menemani hari-hari penulis, berbagi keluh kesah, dan memberikan dukungan, semangat, serta motivasi yang tiada hentinya;
9. Saudara-saudara MPA Pring Kuning 2014, weteng, centang, gibas, brodol, ompreng, walet, serta teman-teman “Pharmagen” yang telah menemani dan membantu penulis untuk berproses selama berada di Fakultas Farmasi Universitas Jember;
10. Teman seperantauan, Mita dan teman-teman kos tercinta yang telah memberikan bantuan dan semangat dalam kehidupan penulis selama di perantauan;
11. Teman-teman KKN 47, Riris, Nindy, Cucuk, Burhan, Budi, Riki, Rizki, Dyno, Ipul yang telah memberikan warna baru dan cerita di kehidupan kampus penulis;
12. Seluruh dosen dan karyawan Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu dan bantuan kepada penulis selama menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember; dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Hanya doa yang dapat penulis panjatkan semoga segala kebaikan yang diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT. Penulis sadar bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna sehingga penulis menerima kritik dan saran dari semua pihak. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Penulis

**DAFTAR ISI**

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN MOTTO .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN SKRIPSI.....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>viii</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xviii</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Latar Belakang .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2. Rumusan Masalah .....</b>	<b>4</b>
<b>1.3. Tujuan Penelitian .....</b>	<b>5</b>
<b>1.4. Manfaat Penelitian .....</b>	<b>5</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
<b>2.1. Tinjauan tentang Radikal Bebas.....</b>	<b>6</b>
<b>2.2. Tinjauan tentang Antioksidan .....</b>	<b>7</b>
<b>2.3. Tinjauan tentang Senyawa Antioksidan .....</b>	<b>9</b>
2.3.1. Flavonoid .....	9
2.3.2. Tanin .....	10
2.3.3. Senyawa Antioksidan Lain .....	10
<b>2.4. Tinjauan tentang Metode ABTS .....</b>	<b>11</b>
<b>2.5. Tinjauan tentang Sensor Kimia .....</b>	<b>13</b>

<b>2.6. Tinjauan tentang Teknik Imobilisasi Adsorpsi .....</b>	<b>14</b>
<b>2.7. Tinjauan tentang <i>Paper Microzone Plate</i> .....</b>	<b>15</b>
<b>2.8. Tinjauan tentang Karakterisasi Sensor Kimia .....</b>	<b>17</b>
2.8.1. Linieritas .....	17
2.8.2. Batas Deteksi dan Batas Kuantifikasi .....	17
2.8.3. Presisi .....	18
2.8.4. Akurasi .....	19
2.8.5. Waktu Respon dan Waktu Pakai .....	20
2.8.6. Selektivitas (Interferensi) .....	21
<b>2.9. Tinjauan tentang Kunyit (<i>Curcuma longa L.</i>) .....</b>	<b>21</b>
<b>2.10. Tinjauan tentang Jambu Biji (<i>Psidium guajava L.</i>) .....</b>	<b>22</b>
<b>2.11. Tinjauan tentang Kayu Secang (<i>Caesalpinia sappan L.</i>) .....</b>	<b>24</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>26</b>
<b>3.1. Jenis Penelitian .....</b>	<b>26</b>
<b>3.2. Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>26</b>
<b>3.3. Definisi Operasional .....</b>	<b>26</b>
<b>3.4. Alur Penelitian .....</b>	<b>27</b>
<b>3.5. Alat dan Bahan yang Digunakan .....</b>	<b>28</b>
3.5.1. Alat .....	28
3.5.2. Bahan .....	28
<b>3.6. Pembuatan Sensor Kimia .....</b>	<b>28</b>
3.6.1. Pembuatan Sensor Berbasis Kertas .....	28
3.6.2. Preparasi Reagen ABTS .....	29
3.6.3. Preparasi Larutan Induk Kuersetin .....	29
3.6.4. Preparasi Larutan Standar Kuersetin .....	30
3.6.5. Preparasi Sampel .....	30
<b>3.7. Optimasi Sensor Kimia .....</b>	<b>30</b>
3.7.1. Optimasi Volume Reagen ABTS pada Kertas .....	30

3.7.2. Optimasi Konsentrasi Reagen ABTS.....	31
<b>3.8. Karakterisasi Sensor Antioksidan .....</b>	<b>31</b>
3.8.1. Waktu Respon.....	31
3.8.2. Linieritas .....	32
3.8.3. Batas Deteksi dan Batas Kuantifikasi .....	32
3.8.4. Presisi.....	32
3.8.5. Akurasi .....	32
3.8.6. Selektivitas (Interferensi) .....	33
3.8.7. Waktu Pakai .....	33
<b>3.9. Aplikasi Sensor Antioksidan dalam Penentuan Aktivitas Antioksidan ...</b> .....	<b>34</b>
<b>3.10. Analisis Metode .....</b>	<b>34</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>35</b>
<b>4.1. Fabrikasi Sensor Antioksidan .....</b>	<b>35</b>
<b>4.2. Optimasi Sensor Kimia .....</b>	<b>36</b>
4.2.1. Optimasi Volume Reagen ABTS pada Kertas.....	36
4.2.2. Optimasi Konsentrasi Reagen ABTS.....	38
<b>4.3. Karakterisasi Sensor Antioksidan .....</b>	<b>41</b>
4.3.1. Waktu Respon.....	41
4.3.2. Linieritas .....	42
4.3.3. Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ) .....	44
4.3.4. Presisi.....	45
4.3.5. Akurasi .....	46
4.3.6. Selektivitas (Interferensi) .....	50
4.3.7. Waktu Pakai .....	51
<b>4.4. Aplikasi Sensor Antioksidan pada Sampel Dibandingkan dengan</b> <b>Metode Spektrofotometri UV-VIS .....</b>	<b>53</b>



<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>55</b>
<b>5.1. Kesimpulan .....</b>	<b>55</b>
<b>5.2. Saran.....</b>	<b>56</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>57</b>



**DAFTAR TABEL**

Tabel 3.1. Perbandingan Konsentrasi Reagen ABTS .....	31
Tabel 4.1. Optimasi Reagen ABTS Ditambahkan Larutan Standar Kuersetin ....	39
Tabel 4.2. Data Waktu Respon Standar Kuersetin .....	41
Tabel 4.3. Data Hasil Pengukuran $\Delta mean RGB$ untuk Linieritas .....	43
Tabel 4.4. Data Parameter Pengujian Linieritas .....	44
Tabel 4.5. Hasil Uji Presisi Repeatabilitas .....	46
Tabel 4.6. Hasil Uji Presisi Antara .....	46
Tabel 4.7. Hasil Uji Akurasi Ekstrak Daun Jambu Merah .....	47
Tabel 4.8. Hasil Uji Akurasi Ekstrak Daun Jambu Putih .....	48
Tabel 4.9. Hasil Uji Akurasi Ekstrak Kayu Secang .....	49
Tabel 4.10. Hasil Uji Akurasi Ekstrak Rimpang Kunyit .....	50
Tabel 4.11. Hasil Uji Selektivitas (Interferensi) .....	51
Tabel 4.12. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan .....	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Reaksi Pembentukan radikal ABTS dari ABTS dan kalium persulfat..	12
Gambar 2.2. Skema sensor kimia.....	13
Gambar 2.3. Waktu pakai sensor yang dapat ditentukan mulai (a) hingga batas (b) Waktu pakai mulai turun pada (c) hingga (d) .....	20
Gambar 3.1. Diagram Alur Penelitian.....	27
Gambar 3.2. Desain sensor berbasis kertas .....	29
Gambar 4.1. Perubahan warna sensor antioksidan, (a) merupakan sensor antioksidan dan (b) merupakan sensor antioksidan bereaksi dengan analit .....	35
Gambar 4.2. Optimasi Volume Reagen ABTS pada Kertas .....	36
Gambar 4.3. Kurva Optimasi $\Delta mean$ Nilai Warna .....	37
Gambar 4.4. Hasil Optimasi Volume 2 $\mu\text{L}$ dan 3 $\mu\text{L}$ .....	37
Gambar 4.5. Kurva Optimasi Reagen ABTS Konsentrasi 7 mM .....	40
Gambar 4.6. Kurva Optimasi Reagen ABTS Konsentrasi 14 mM .....	40
Gambar 4.7. Kurva Optimasi Reagen ABTS Konsentrasi 21 mM .....	41
Gambar 4.8. Kurva Waktu Respon Sensor .....	42
Gambar 4.9. Kurva Linieritas Standar Kuersetin .....	43
Gambar 4.10. Kurva Kalibrasi Pengukuran Presisi .....	45
Gambar 4.11. Perubahan nilai $\Delta mean RGB$ terhadap waktu pada sensor antioksidan yang disimpan pada suhu ruang ( $25^{\circ}\text{C}$ ) .....	52
Gambar 4.12. Perubahan nilai $\Delta mean RGB$ terhadap waktu pada sensor antioksidan yang disimpan pada suhu <i>chiller</i> ( $4^{\circ}$ ).....	52

**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1. Data Optimasi Volume Reagen .....	62
Lampiran 2. Data Waktu Respon Reagen ABTS .....	62
Lampiran 3. Hasil Uji Linieritas .....	63
Lampiran 4. Hasil Analisis LOD dan LOQ .....	64
Lampiran 5. Hasil Pengujian Akurasi Ekstrak Daun Jambu Merah .....	65
Lampiran 6. Hasil Pengujian Akurasi Ekstrak Daun Jambu Putih .....	67
Lampiran 7. Hasil Pengujian Akurasi Ekstrak Kayu Secang.....	69
Lampiran 8. Hasil Pengujian Akurasi Ekstrak Rimpang Kunyit .....	71
Lampiran 9. Hasil Uji Selektivitas (Interferensi) .....	73
Lampiran 10. Hasil Uji Waktu Pakai (Stabilitas) .....	74
Lampiran 11. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan .....	74
Lampiran 12. Hasil Uji T .....	76

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Radikal bebas adalah molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan (Poprac dkk., 2017). Radikal bebas tidak hanya memiliki peran penting bagi sistem kekebalan tubuh, namun juga berperan penting dalam asal dan patologi beberapa penyakit *age related*, terutama kanker dan gangguan neuro degeneratif. Beberapa bukti menunjukkan bahwa terdapat kerusakan oksidatif di daerah otak yang terkena penyakit *age related*. Studi pada hewan menunjukkan bahwa penurunan kerusakan oksidatif dapat mempertahankan fungsi saraf. Untuk meminimalkan kerusakan oksidatif, sistem radikal bebas dalam tubuh manusia harus seimbang dengan antioksidan agar dapat melakukan fungsinya dengan baik (Halliwell, 2011).

Antioksidan adalah suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam kadar atau jumlah tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan oksidatif (Sayuti dan Yenrina, 2015). Dalam tubuh manusia memiliki sistem antioksidan, namun aktivitasnya dapat menurun jika jumlah radikal bebas berlebihan. Untuk mengeliminasi dan menetralisasi efek radikal bebas dibutuhkan antioksidan eksogen (berasal dari bahan pangan yang dikonsumsi) dalam jumlah yang lebih banyak (Astuti, 2008). Sumber antioksidan dapat berupa antioksidan sintetik yang berasal dari hasil sintesa reaksi kimia dan antioksidan alami yang berasal dari hasil ekstraksi bahan alami atau yang terkandung dalam bahan alami (Astuti, 2008; Zuhra dkk., 2008). Tanaman obat mengandung berbagai senyawa fitokimia seperti fenol, flavonoid, vitamin, tanin, dan banyak diantaranya memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Kumar dkk., 2013), namun informasi ilmiah tentang aktivitas antioksidan tanaman obat belum banyak ditemukan. Untuk mencari antioksidan alami, pengujian tanaman obat masih diperlukan (Cholisoh dan Utami, 2008).

Metode pengujian antioksidan antara lain, yaitu *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH), *2,2'-azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid* (ABTS), *ferric reducing*

*antioxidant power* (FRAP), *oxygen radical absorption capacity* (ORAC), dan *total radical absorption potential* (TRAP) (Zampini dkk., 2010). Pengujian ini berdasarkan reaksi transfer atom hidrogen dan transfer elektron. Pada metode DPPH, radikal DPPH memberikan warna ungu bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui donor atom hidrogen menyebabkan penurunan warna. Pada metode ABTS terbentuk radikal kation ABTS membentuk warna hijau kebiruan yang bereaksi dengan senyawa antioksidan menyebabkan penurunan warna (Pisoschi dan Negulescu, 2011). Pada metode FRAP terjadi pengikatan  $\text{Fe}^{2+}$  memberikan warna biru navy yang bereaksi dengan antioksidan menyebabkan reduksi  $\text{Fe}^{2+}$ . Metode ORAC mengukur aktivitas antioksidan melalui *scavenging* radikal peroksil. Pada metode TRAP, radikal menghasilkan *chemiluminescence* (CL) yang beraksi dengan senyawa antioksidan menyebabkan sinyal CL padam (Pisoschi dan Negulescu, 2011).

Dibandingkan beberapa metode lainnya, ABTS memiliki kelebihan yaitu larut dalam pelarut air dan organik di mana aktivitas antioksidan dapat diukur karena sifat hidrofilik dan lipofilik dari senyawa sampel (Arnao, 2001). Sedangkan metode lain seperti metode DPPH hanya dapat dilarutkan dalam pelarut organik terutama dalam media alkohol, dapat menjadi penghambat ketika pengujian aktivitas antioksidan sampel bersifat hidrofilik (Arnao, 2001). Kelebihan metode ABTS lainnya yaitu sampel dapat bereaksi dengan cepat (Shalaby dan Shanab, 2013). Pengujian antioksidan dengan metode ABTS dapat menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) ataupun spektrofotometri.

Pengujian antioksidan dengan metode ABTS menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dan reaksi *post-column* digunakan untuk mendeteksi senyawa radikal bebas dalam sampel kompleks. Metode kromatografi sering diterapkan untuk pemisahan dan pendeteksian antioksidan, dan digunakan sebelum analisis spektrofotometri atau elektrokimia dari total kapasitas antioksidan. Setelah pemisahan sampel pada kolom KCKT, eluat diarahkan ke detektor PDA (*photodiode array*) dan kemudian dicampur dengan larutan radikal kation ABTS dan diarahkan ke detektor untuk dihitung absorbansinya. Larutan kation ABTS berwarna biru tua dan



peredaman radikal menghasilkan hilangnya warna yang ditunjukkan oleh *negative peak* pada kromatogram KCKT (Pisoschi dan Negulescu, 2011). Metode ini juga memiliki kekurangan yaitu dipengaruhi oleh suhu. Suhu yang rendah dapat menyebabkan reaksi radikal bebas dengan sampel berjalan lambat, sehingga waktu reaksi menjadi lebih lama (Marksa dkk., 2015). Selain itu, peralatan yang digunakan cukup rumit, mahal dan memerlukan personil yang berkualitas (Pisoschi dan Negulescu, 2011).

Pengujian antioksidan dengan metode ABTS lainnya yaitu menggunakan spektrofotometri berdasarkan pada reaksi suatu radikal, radikal kation atau kompleks dengan molekul antioksidan yang mampu menyumbangkan atom hidrogen. Penambahan atom hidrogen yang menyumbangkan antioksidan dapat menghasilkan penurunan warna (Pisoschi dan Negulescu, 2011). Tidak hanya KCKT, metode spektrofotometri juga memiliki kelemahan yaitu peralatan yang relatif mahal, waktu analisis yang relatif lama, dan membutuhkan volume sampel yang relatif besar (Gani dkk., 2015). Berdasarkan hal tersebut, diperlukan alternatif pengujian antioksidan yang cepat, mudah, dan murah.

Salah satu alternatif metode pengujian aktivitas antioksidan yaitu menggunakan sensor. Sensor dapat diartikan sebagai alat yang memiliki kemampuan mengubah suatu energi menjadi energi yang lain, seperti pada sensor kimia. Sensor kimia adalah suatu alat analisis yang berisi reagen kimia yang dapat bereaksi dengan analit dengan menghasilkan perubahan fisika-kimiawi yang diubah menjadi sinyal listrik sesuai dengan konsentrasi analit. Sensor kimia digolongkan menjadi 3 (tiga) kelompok besar yang saat ini sedang banyak dikembangkan oleh ilmuwan di banyak negara yaitu sensor elektrokimia, sensor optik dan sensor kimia lainnya (*mass sensor*, *thermo sensor*). Sensor kimia optik menawarkan beberapa kelebihan dibandingkan dengan jenis sensor lainnya. Sinyal kimia yang diperoleh karena reaksi dengan analit akan diubah ke dalam sinyal optik sebagai antarmuka *chemo-optical*, kemudian dikonversi menjadi sinyal listrik pada antarmuka *opto-electronic*. Selanjutnya, sinyal diproses lebih lanjut dan ditampilkan dalam *screen* (Kuswandi, 2010).

Sensor kimia yang dikembangkan dalam penelitian ini adalah sensor kimia berbasis reagen ABTS. Kelebihan metode ini yaitu efektif, cepat dan mudah diulang (Serlahwaty dan Sevian, 2016). Pengembangan metode ini dibuat dengan mengimobilisasi campuran reagen ABTS dan kalium persulfat pada kertas. Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan berdasarkan penurunan intensitas warna ABTS setelah ditambahkan antioksidan (Zampini dkk., 2010). Sensor antioksidan kemudian dipayar menggunakan *scanner* dan diukur perubahan warna menggunakan *ImageJ*. Pengujian antioksidan menggunakan sensor kimia berbasis reagen ABTS pada kertas belum pernah dilakukan. Selain itu, pengembangan sensor ini dapat menjadi salah satu alternatif deteksi aktivitas antioksidan pada tanaman obat. Sampel tanaman yang digunakan pada penelitian ini memiliki warna berbeda yaitu ekstrak rimpang kunyit berwarna kuning, ekstrak daun jambu biji berwarna hijau, dan ekstrak kayu secang berwarna merah. Pengembangan metode ini diharapkan lebih efektif dan efisien dibandingkan metode pengujian lainnya.

## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka permasalahan yang diperoleh adalah sebagai berikut:

1. Bagaimanakah kondisi optimal fabrikasi sensor antioksidan (konsentrasi dan volume reagen) berbasis kertas menggunakan reagen ABTS?
2. Bagaimanakah karakterisasi analisis (waktu respon, linieritas, batas deteksi, batas kuantitasi, presisi, akurasi, selektivitas dan waktu pakai) sensor berbasis kertas menggunakan reagen ABTS?
3. Bagaimanakah perbandingan aplikasi sensor berbasis kertas dengan metode spektrofotometri pada deteksi aktivitas antioksidan ekstrak rimpang kunyit, ekstrak daun jambu biji, dan ekstrak kayu secang?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui kondisi optimal fabrikasi sensor antioksidan (konsentrasi dan volume reagen) berbasis kertas menggunakan reagen ABTS.
2. Untuk mengetahui karakterisasi analisis (waktu respon, linieritas, batas deteksi, batas kuantitasi, presisi, akurasi, selektivitas dan waktu pakai) sensor berbasis kertas menggunakan reagen ABTS.
3. Untuk mengetahui perbandingan aplikasi sensor berbasis kertas dengan metode spektrofotometri pada deteksi aktivitas antioksidan ekstrak rimpang kunyit, ekstrak daun jambu biji, dan ekstrak kayu secang.

### **1.4. Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi pengembangan sensor berbasis kertas untuk mengukur aktivitas antioksidan pada ekstrak rimpang kunyit, ekstrak daun jambu biji, dan ekstrak kayu secang.
2. Memberikan informasi aktivitas antioksidan dalam sampel menggunakan sensor berbasis kertas dengan reagen ABTS secara murah, mudah, dan cepat.
3. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar penelitian lebih lanjut.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Tinjauan tentang Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul atau fragmen molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada bagian orbital luarnya. Dalam jumlah tertentu radikal bebas diperlukan untuk kesehatan. Fungsi radikal bebas dalam tubuh adalah untuk melawan radang, membunuh bakteri dan mengatur tonus otot polos dalam organ dan pembuluh darah. Namun, radikal bebas bersifat merusak dan sangat berbahaya. Elektron yang tidak berpasangan pada radikal bebas dapat mengakibatkan senyawa menjadi sangat reaktif untuk mencari pasangannya dengan cara mengikat atau menyerang elektron molekul yang berada disekitarnya. Yang diikat radikal bebas pada umumnya adalah molekul besar seperti lipid, protein, maupun DNA (pembawa sifat) (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Radikal bebas yang biasa disebut senyawa oksigen reaktif (ROS) dapat dibentuk melalui jalur enzimatik atau metabolik. Proses perubahan dari asam arakidonat menjadi prostaglandin dan prostasiklin dipicu oleh enzim lipoksigenase dan siklooksigenase yang menghasilkan senyawa oksigen reaktif berupa peroksida dan epoksida, serta oksidase yang berbentuk aldehyd oksidase dan selanjutnya akan membentuk radikal anion superoksida. Radikal bebas dapat dibentuk dari komponen makanan yang diubah menjadi bentuk energi melalui proses metabolisme. Pada saat proses metabolisme sering kali terjadi kebocoran elektron sehingga terbentuk radikal bebas seperti anion superoksida, hidroksil dan lain-lain dengan mudah. Radikal bebas juga dapat terbentuk dari senyawa lain yang bukan merupakan radikal bebas, tetapi mudah berubah menjadi radikal bebas, misalnya Hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Kedua kelompok senyawa tersebut diistilahkan sebagai *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Berbagai contoh radikal bebas dari ROS diantaranya adalah radikal superoksida ( $O_2^{\cdot-}$ ), radikal hidroksil ( $\cdot OH$ ), radikal peroksil ( $RO_2^{\cdot}$ ), radikal alkoksil

(RO\*) dan non radikal lainnya yang dapat merangsang oksidasi atau terbentuknya senyawa, molekul atau atom yang bersifat radikal seperti hipoklorit (HOCl), ozon (O<sub>3</sub>), singlet oksigen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) dan hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>). Sedangkan contoh radikal bebas dari *Reactive Nitrogen Species* (RNS) diantaranya adalah radikal nitrogen oksida (NO\*), nitrogen dioksida (NO<sub>2</sub>\*), dan radikal nitrogen oksida lainnya (Widowati dkk., 2016). Tidak semua ROS adalah radikal bebas. ROS bisa dibagi menjadi dua kelas, yaitu *oxygen-centered radicals* dan *oxygen-centered non-radicals*. Adapun yang termasuk *oxygen-centered radicals* adalah anion superoksida (\*O<sub>2</sub><sup>-</sup>), radikal hidroksil (OH\*), radikal alkoksil (RO\*) dan radikal peroksil (ROO\*). Sedangkan yang tergolong kedalam *oxygen-centered non-radicals* adalah hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), dan singlet oksigen (O<sub>2</sub>\*). Senyawa reaktif lainnya adalah nitrit oksida (NO\*), nitrit dioksida (NO<sub>2</sub>\*) dan peroksinitril (OONO\*) (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Reaktivitas radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan sel dan mengawali timbulnya berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, infeksi, penyakit jantung koroner, rematik, penyakit respiratorik, katarak, *liver* dan *aging* (Kumar dkk., 2013; Sayuti dan Yenrina, 2015). Hal tersebut terjadi karena interaksi ROS atau RNS dengan DNA mengawali terbentuknya DNA *adducts* selama proses perbaikan atau replikasi, yang berakibat terjadinya mutasi DNA. Penumpukan DNA termutasi menyebabkan perkembangan sel neoplastik (Sayuti dan Yenrina, 2015).

## 2.2. Tinjauan tentang Antioksidan

Antioksidan adalah suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam kadar atau jumlah tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi. Secara alami sistem antioksidan telah ada dalam tubuh sebagai mekanisme perlindungan terhadap serangan radikal bebas. Mekanisme kerja antioksidan dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat



oksidan sehingga dapat menghambat aktivitas senyawa oksidan tersebut (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Sistem antioksidan dalam tubuh terdiri dari banyak komponen diantaranya superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx), katalase (CAT), *glutathione-S-transferase* (GST). Tetapi jika senyawa radikal bebas dalam tubuh berlebih hingga melebihi batas kemampuan proteksi antioksidan seluler, maka diperlukan antioksidan tambahan dari luar atau antioksidan eksogen untuk menetralkan radikal yang terbentuk (Sayuti dan Yenrina, 2015). Antioksidan ekstraseluler berasal dari makanan seperti  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -karoten, vitamin c, *ubiquinol* dan flavonoid (Widowati dkk., 2005).

Antioksidan dapat diklasifikasikan menjadi dua, yaitu antioksidan primer dan antioksidan sekunder. Antioksidan primer bekerja sebagai pemutus reaksi berantai, bereaksi dengan radikal lipid mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil, dan sebagai antioksidan preventif dengan mengurangi kecepatan reaksi inisiasi, mencegah autooksidasi lipid melalui pemberian atom hidrogen yang cepat kepada radikal lipid. Antioksidan yang termasuk golongan ini adalah fenolik seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA), *tertiary butyl hydroquinone* (TBHQ), *butylated hydroxytoluene* (BHT), dan senyawa alami flavonoid. Sedangkan, antioksidan sekunder bekerja memperlambat laju autooksidasi melalui berbagai mekanisme yaitu melalui pengikatan ion logam, penangkapan oksigen, penguraian hiperoksida menjadi produk non radikal, penyerapan radiasi UV, deaktivasi singlet oksigen. Yang termasuk golongan ini adalah asam askorbat, askorbil palmitat, asam eritorbat, natrium eritorbat sebagai antioksidan sekunder untuk menstabilkan produk pangan dan pakan berlemak (Widowati dkk., 2005).



### 2.3. Tinjauan tentang Senyawa Antioksidan

#### 2.3.1. Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa fenol alam yang terdapat dalam hampir semua tumbuhan (Neldawati dkk., 2013). Beberapa senyawa flavonoid seperti *quercetin*, *kaempferol*, *myricetin*, *apigenin*, *luteolin*, *vitexin* dan *isovitexin* terdapat pada sereal, sayuran, buah dan produk olahannya dengan kandungan yang bervariasi serta sebagian besar memiliki sifat sebagai antioksidan. Flavonoid sebagai antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Redha, 2010). Kerangka dasar flavonoid terdiri dari 15 atom karbon., dimana terdapat dua cincin benzena (C6) terikat oleh rantai propana (C3) (Noer dkk., 2018).

Menurut Halliwell dan Gutteridge (1999) flavonoid bekerja dengan menurunkan pembentukan radikal bebas atau ROS dengan cara menghambat enzim, pengkelatan ion logam (*metal ion chelating*) yang terlibat produksi radikal bebas dan meredam radikal bebas (*free radicals scavengers*). Flavonoid menghambat enzim yang bertanggungjawab pada produksi radikal anion superoksida seperti *xanthin oksidase* dan protein kinase. Flavonoid juga menunjukkan penghambatan terhadap siklooksigenase, lipoksigenase, mikrosomal monooksigenase, *glutathion S-transferase*, *suksin oksidase* mitokondria, dan *NADH oksidase* yang seluruhnya terlibat dalam pembentukan ROS (Widowati dkk., 2005). Sebagai antioksidan potensial, flavonoid mengkelat logam dan menstabilkannya sehingga logam tersebut tidak dapat mengkatalisis reaksi oksidasi radikal bebas. Flavonoid meredam reaktivitas radikal bebas, sehingga mengarahkan molekul tersebut menjadi lebih stabil. Flavonoid juga bekerja mendonorkan ion hidrogen atau elektron kepada anion superoksida, sehingga melindungi lipoprotein, protein, dan DNA dari oksidasi (Rahmawati dkk., 2014).

### 2.3.2. Tanin

Tanin adalah salah satu golongan senyawa polifenol yang juga banyak dijumpai pada tanaman. Umumnya tanin tersebar hampir pada seluruh bagian tumbuhan seperti pada bagian kulit kayu, daun, batang, dan buah (Amelia, 2015). Tanin dapat didefinisikan sebagai senyawa polifenol dengan berat molekul yang sangat besar yaitu lebih dari 1000 g/mol serta dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein. Struktur senyawa tanin terdiri dari cincin benzena (C6) yang berikatan dengan gugus hidroksil (-OH). Secara kimia, tanin dibagi menjadi empat golongan yaitu tanin terhidrolisis, tanin terkondensasi, tanin kompleks, pseudotanin (Amelia, 2015).

Tanin memiliki peranan biologis yang besar karena fungsinya sebagai pengendap protein dan pengkhelat logam. Oleh karena itu, tanin dapat berperan sebagai antioksidan biologis (Noer dkk., 2018). Tanin mempunyai aktivitas antioksidan yang bekerja dengan menghambat pertumbuhan tumor dan menghambat enzim seperti *reverse transkriptase* dan *DNA topoisomerase* (Amelia, 2015).

### 2.3.3. Senyawa Antioksidan Lain

Senyawa lain yang berkhasiat sebagai antioksidan alami, yaitu  $\beta$ -karoten, vitamin C, vitamin E, dan antosianin.  $\beta$ -karoten merupakan zat aktif vitamin A dalam tubuh.  $\beta$ -karoten sebagai antioksidan dapat menstabilkan radikal berinti karbon, sehingga dapat mengurangi resiko terjadinya kanker. Salah satu keunikan sifat antioksidan beta-karoten adalah efektif pada konsentrasi rendah oksigen, sehingga dapat melengkapi sifat antioksidan vitamin E yang efektif pada konsentrasi tinggi oksigen. Selain itu,  $\beta$ -karoten juga dapat meningkatkan daya tahan tubuh dan mengurangi resiko terjadinya *stroke* (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Vitamin C atau L-asam askorbat merupakan antioksidan yang larut dalam air (*aqueous antioxidanti*) dan bagian dari sistem pertahanan tubuh terhadap senyawa oksigen reaktif dalam plasma dan sel. Asam askorbat dapat memutus reaksi radikal yang dihasilkan melalui lipid peroksidasi. Selain vitamin C, vitamin E atau tokoferol

merupakan antioksidan larut lemak, dimana vitamin ini mereduksi radikal bebas lipid lebih cepat dari pada oksigen. Vitamin E merupakan sebuah senyawa fenolik yang dapat menangkap radikal bebas (Sayuti dan Yenrina, 2015).

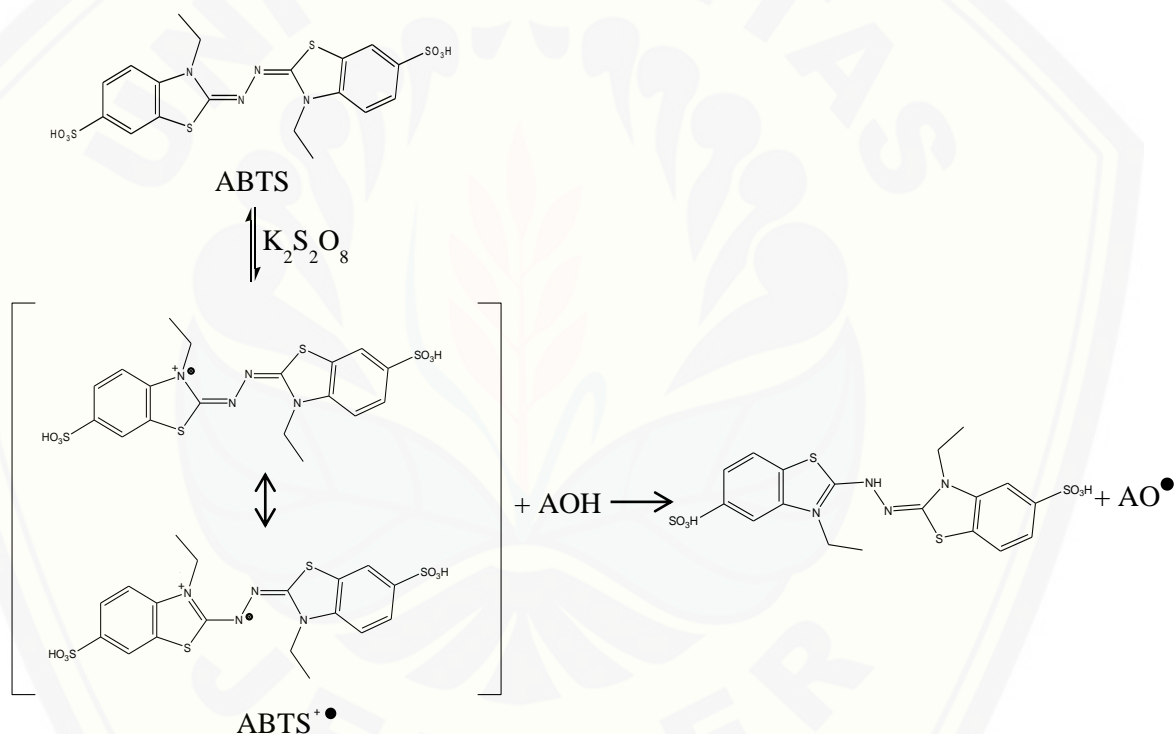
Antosianin merupakan glikosida antosianidin, yaitu merupakan garam polihidroksiflavilium (2-arilbenzopirilium). Antosianin bermanfaat bagi kesehatan tubuh karena dapat berfungsi sebagai antioksidan, antihipertensi, dan pencegah gangguan fungsi hati, jantung koroner, kanker, dan penyakit-penyakit degeneratif, seperti arteriosklerosis. Antosianin juga mampu menghalangi laju perusakan sel radikal bebas akibat nikotin, polusi udara, dan bahan kimia lainnya (Sayuti dan Yenrina, 2015).

#### **2.4. Tinjauan tentang Metode ABTS**

Metode ABTS adalah salah satu metode yang secara langsung mengukur antioksidan dalam bahan alam. Metode ABTS, yang juga disebut uji radikal ABTS, telah banyak digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan komponen dalam makanan dan minuman karena penerapannya dalam fase air dan lipid. Aktivitas antioksidan dari produk alami, termasuk karotenoid, senyawa fenolik, dan beberapa antioksidan plasma, ditentukan oleh penurunan warna ABTS (Moon dan Shibamoto, 2009). Metode ABTS menggunakan prinsip inhibisi, yaitu sampel ditambahkan pada sistem yang menghasilkan radikal bebas dan pengaruh inhibisi terhadap efek radikal bebas diukur untuk menentukan kapasitas antioksidan dari sampel (Wang dkk., 2004). Reagen dibuat dengan mencampurkan larutan ABTS dengan kalium persulfat ( $K_2O_8S_2$ ). ABTS memiliki sifat dapat larut dalam pelarut air dan organik (Arnao, 2001). Sedangkan  $K_2O_8S_2$  memiliki sifat dapat larut dalam air dan tidak larut dalam alkohol. ABTS dioksidasi  $K_2O_8S_2$  menghasilkan radikal kation ABTS yang memiliki penyerapan warna hijau kebiruan, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.1. (Moon dan Shibamoto, 2009). Penambahan antioksidan akan menurunkan aktivasi ABTS

sehingga terjadinya penurunan warna dianggap sebagai penghambatan radikal ABTS (Re dkk., 1999).

Metode ABTS adalah salah satu metode yang secara langsung mengukur antioksidan dalam bahan alam. Metode ABTS memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode lain, yaitu pengujian sederhana, mudah diulang, menggunakan alat yang sederhana serta tidak menggunakan alat khusus untuk menghitung total antioksidan (Serlahwaty dan Sevian, 2016). Metode ABTS untuk pengujian antioksidan dapat menggunakan spektrofotometri ataupun KCKT.



Gambar 2.1. Reaksi Oksidasi untuk membentuk radikal kation ABTS oleh kalium persulfat dan Reaksi dengan Antioksidan

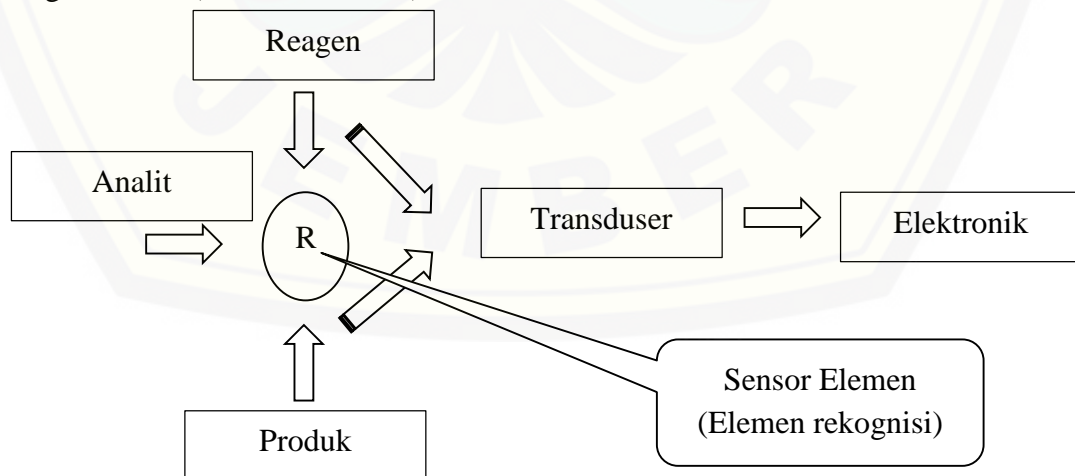
Metode spektrofotometri berdasarkan reaksi antara radikal kation ABTS dengan molekul antioksidan yang dapat menyumbangkan atom hidrogen. Radikal kation ABTS ( $ABTS^{\bullet+}$ ) dibentuk oleh hilangnya elektron oleh atom nitrogen. Penambahan antioksidan menghasilkan penurunan absorbansi yang diukur pada panjang gelombang 743 nm. Metode spektrofotometri berdasarkan pengurangan

absorbansi radikal kation ABTS diterapkan untuk penentuan kadar antioksidan seperti pada ekstrak buah jambu biji, ekstrak buah dan sayuran, minuman ringan, minuman beralkohol, teh dan kopi (Pisoschi dan Negulescu, 2011).

Metode KCKT (kromatografi cair kinerja tinggi) biasanya menggunakan fase diam, pompa yang menggerakkan fase gerak dan analit melalui kolom, dan detektor yang memberikan waktu retensi analit. Aktivitas antioksidan menggunakan KCKT dengan deteksi antioksidan *post-column*, berdasarkan aktivitas *scavenging* radikal ABTS. Metode ini diterapkan untuk penentuan kandungan antioksidan pada kopi. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 720 nm (Pisoschi dan Negulescu, 2011).

## 2.5. Tinjauan tentang Sensor Kimia

Sensor kimia adalah suatu alat analisa (*analytical device*) berisi reagen kimia (*chemical reagent*) yang dapat bereaksi dengan analit dalam larutan atau gas, sehingga menghasilkan perubahan fisika-kimiawi yang dapat diubah menjadi sinyal listrik yang proporsional dengan konsentrasi analit. Sensor kimia biasanya banyak diaplikasikan untuk mendeteksi senyawa kimia atau analit yang direaksikan dengan reagen kimia. Secara garis besar, sensor kimia secara skematis dapat digambarkan sebagai berikut (Kuswandi, 2010).



Gambar 2.2. Skema sensor kimia



Secara singkat sensor kimia dapat ditulis sebagai berikut:

$$\text{Sensor Kimia} = \text{Reagen} + \text{Transduser}$$

Dari gambaran diatas terlihat bahwa sensor kimia adalah gabungan dari dua disiplin ilmu, yaitu kimia yang melibatkan reaksi kimia yang spesifik terhadap analit tertentu dengan instrumen, yang mampu merubah perubahan fisikokimia tersebut menjadi sinyal listrik, sehingga mudah dibaca baik secara analog dengan jarum penunjuk maupun secara digital dengan digital *display* (Kuswandi, 2010).

Sebuah sensor kimia yang ideal adalah sensor yang mampu berinteraksi dengan analit secara reversibel, sehingga sinyal sensor dapat dikontrol dengan mudah baik secara kinetik maupun termodinamik. Secara umum, mekanisme dari suatu sensor kimia dapat dirancang atau didesain sesuai dengan karakterisasi analit yang ingin dideteksi. Sensor kimia yang berbasis reaksi transfer muatan biasanya banyak terjadi pada sensor kimia yang menggunakan material anorganik (misalnya  $\text{SnO}_2$ ,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{Ta}_2\text{O}_5$ ,  $\text{IrOx}$ ,  $\text{In}_2\text{O}_5$ ). Reaksi jenis ini biasanya berbentuk reaksi akseptor-donor dari reaksi adsorpsi kimiawi (*chemisorption*) antara analit dengan lapisan sensor. Jenis sensor kimia lainnya yaitu berbasis reaksi kunci-anak kunci (*key-lock*). Sensor kimia jenis ini biasanya didesain dengan suatu reaksi yang sangat spesifik, misalnya reaksi spesifik pada sisi aktif suatu polimer. Sehingga sensor jenis ini memiliki selektif yang tinggi dalam mendeteksi suatu analit (Kuswandi, 2010).

## 2.6. Tinjauan tentang Teknik Imobilisasi Adsorpsi

Pada sensor kimia, biasanya reagen yang digunakan diimobilisasi terlebih dahulu atau dijadikan fasa padat (sering disebut juga reagen kering) sehingga mudah dikendalikan. Imobilisasi merupakan suatu proses pengikatan molekul reagen pada bahan pendukung (*solid support material*), sehingga molekul reagen dapat tersebar dalam fasa pendukung tersebut secara merata dan homogen. Pemilihan teknik imobilisasi biasanya berdasarkan kesesuaian dengan sifat-sifat reagen. Secara garis

besar immobilisasi reagen dapat digolongkan menjadi dua jenis metode immobilisasi yaitu metode kimia dan fisika. Metode immobilisasi secara fisika meliputi proses penyerapan (*adsorption*), pemerangkapan (*entrapment*), pengkapsulan (*encapsulation*) dan interaksi elektrostatis. Sedangkan secara kimia meliputi pembentukan ikatan kovalen dan *cross-linking* (Kuswandi, 2010).

Adsorpsi adalah bentuk yang paling mudah dalam immobilisasi reagen pada material pendukung. Teknik ini juga sangat luas digunakan, karena bisa digunakan untuk mengikat berbagai macam reagen dari material reagen organik hingga anorganik. Banyak kasus dalam immobilisasi secara adsorpsi yang melibatkan ikatan *hydrogen* dan ikatan *Van der Waals*. Adsorpsi biasanya digunakan untuk proses dimana reagen diserap oleh material pendukung. Teknik immobilisasi adsorpsi memiliki kelebihan yaitu mudah, mobilitas partikel tinggi, kapasitas pengikatan tinggi, lepasnya reagen tinggi, dan biaya immobilisasi murah (Kuswandi, 2010).

Secara umum, adsorpsi dibagi menjadi dua golongan, yaitu adsorpsi fisik dan adsorpsi kimia. Pada adsorpsi fisik, ikatan yang terbentuk adalah ikatan *van der Waals* atau ikatan hidrogen sehingga ikatan ini biasanya cukup lemah. Sedangkan pada adsorpsi kimia biasanya ikatan yang terbentuk lebih kuat, karena pada proses ini melibatkan ikatan kovalen. Pada metode adsorpsi yang digunakan dalam sensor kimia, untuk mengimmobilisasi reagen biasanya yang terjadi adalah adsorpsi fisik yang hanya melibatkan ikatan *van der Waals* atau ikatan hidrogen antara reagen dengan material pendukungnya (Kuswandi, 2010).

## **2.7. Tinjauan tentang Paper Microzone Plate**

*Paper microzone plate* merupakan 96-pelat yang dibuat di kertas sebagai pelat bentuk baru untuk *bioassay* yang secara fungsional sama dengan 96-pelat konvensional yang dibuat dengan plastik. Secara luas, pelat plastik digunakan untuk pengukuran analit yang tinggi dan dengan fasilitas penelitian yang dilengkapi dengan baik. *Paper microzone plate* dikembangkan untuk digunakan pada laboratorium

dengan sumber daya yang terbatas maupun laboratorium yang maju. Selain itu, pelat kertas dapat menjadi alternatif saat biaya dipertimbangkan (Carrilho dkk., 2009).

Secara historis, kertas memiliki peran sebagai pendukung untuk uji kualitatif pada kimia analisis organik dan anorganik, sebagai media kromatografi dan elektroforesis, dan sebagai indikator reaktif seperti pada kertas lakmus. Kertas merupakan media yang baik untuk spot tes karena permukaan yang berwarna putih sehingga dapat memberikan kontras warna yang dapat dilihat saat tes uji berwarna. Selain itu, memiliki perbandingan antara permukaan dan volume sehingga penguapan larutan dapat dipercepat dan menghasilkan konsentrasi analit yang proporsional. Pelat kertas menggunakan metode *photolithography*, dengan memberikan hambatan hidrofobik untuk membuat area hidrofilik dan menjadi tempat bereaksi untuk mendeteksi analit (Carrilho dkk., 2009).

Pelat kertas didesain setiap zona bersifat independen dan tidak ada cairan yang mengalir diantara setiap zona dengan memberikan penghalang hidrofobik untuk menghambat pergerakan cairan dalam setiap zona. Uji dilakukan dengan menambahkan bahan kimia secara berurutan. Mikropipet mengeluarkan reagen atau sampel ke zona dan akan menyebar merata oleh aksi kapiler pada zona. Untuk pola pada kertas adalah fleksibel, nyaman untuk *prototype* skala kecil, dan sangat murah. Pelat kertas cocok bekerja dengan volume kecil yaitu 5  $\mu\text{L}$  larutan cukup untuk mengisi zona dengan format 96 zona dan paling sedikit 2  $\mu\text{L}$  untuk 384 zona. Berbeda dengan pelat plastik yang membutuhkan minimal 15  $\mu\text{L}$  untuk mengisi bagian bawah pelat. Untuk metode deteksi dapat menggunakan *microplate reader* dan *scanner*. *Microplate reader* umumnya digunakan untuk mengukur hasil tes yang dilakukan pada pelat plastik. Sebagai alternatif yang lebih murah, deteksi dapat menggunakan *scanner* sebagai detektor pemantul untuk mengukur zat berwarna pada pelat kertas. Keterbatasan *scanner* adalah hanya dapat mengukur warna yang terlihat dan tidak berguna untuk mengukur fluoresensi (Carrilho dkk., 2009).

## 2.8. Tinjauan tentang Karakterisasi Sensor Kimia

Karakterisasi sensor dapat digunakan untuk mengetahui respon sensor yang dihasilkan terhadap analit. Karakterisasi sensor kimia tersebut dapat meliputi daerah kerja linier, limit deteksi dan limit kuantitasi, akurasi, presisi, waktu respon dan waktu pakai.

### 2.8.1. Linieritas

Linieritas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linieritas yang dapat diterima. Perlakuan matematik dalam pengujian linearitas adalah melalui persamaan garis lurus dengan metode kuadrat terkecil antara hasil analisis terhadap konsentrasi analit. Dalam beberapa kasus, untuk memperoleh hubungan proporsional antara hasil pengukuran dengan konsentrasi analit, data yang diperoleh diolah melalui transformasi matematik dulu sebelum dibuat analisis regresinya (Harmita, 2004).

### 2.8.2. Batas Deteksi dan Batas Kuantifikasi

Batas kuantifikasi atau LOQ (*limit of quantification*) dari suatu sensor dapat dihitung sesuai dengan persamaan berikut:

$$LOQ = \frac{10S_{bl}}{m} \dots\dots\dots 2.1$$

Dimana  $S_{bl}$  adalah standar deviasi dari sinyal blanko dan  $m$  adalah slop dari kurva kalibrasi. Sedangkan, batas deteksi atau LOD (*limit of detection*) dapat ditentukan sebagai konsentrasi terkecil dari analit yang dapat dideteksi oleh sensor pada tingkat konfidensial tertentu (biasanya pada 95%). Secara matematis penentuan LOD dapat dihitung sesuai dengan persamaan berikut.

$$S_m = S_{avg.bl} + kS_{bl} \dots\dots\dots 2.2$$



$$c_m = \frac{S_m - S_{avg,bl}}{m} \dots\dots\dots 2.3$$

$$c_m = \frac{kS_{bl}}{m} \dots\dots\dots 2.4$$

Dimana  $S_m$  adalah sinyal minimum yang dapat dideteksi,  $S_{avg,bl}$  adalah rata-rata sinyal dari blanko,  $s_{bl}$  adalah standar deviasi dari sinyal blanko;  $k$  adalah nilai perkalian dari variasi dari sinyal blanko (biasanya bernilai 3), sehingga sinyal analit harus lebih besar dari sinyal blanko ( $S_{avg,bl}$ ) dengan perkalian dari faktor ( $k$ ) dari standar deviasi dari sinyal blanko ( $s_{bl}$ ). Sedangkan  $c_m$  adalah konsentrasi minimum yang masih dapat dideteksi dan  $m$  adalah slop dari kurva kalibrasi (Kuswandi, 2010).

Menurut Harmita (2004), LOD dan LOQ juga dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi. Nilai pengukuran akan sama dengan nilai  $b$  pada persamaan garis linier  $y = a + bx$ , sedangkan simpangan baku blanko sama dengan simpangan baku residual ( $Sy/x$ ). LOD dan LOQ dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$LOD = \frac{3S_b}{S_l} \dots\dots\dots 2.5$$

$$LOQ = \frac{10S_b}{S_l} \dots\dots\dots 2.6$$

Dimana  $S_b$  merupakan simpangan baku respon analitik dari blanko dan  $S_l$  merupakan arah garis linear (kepekaan arah) dari kurva antara respon terhadap konsentrasi = *slope* ( $b$  pada persamaan garis  $y = a+bx$ ) (Harmita, 2004).

### 2.8.3. Presisi

Secara definitif, presisi pada sensor kimia dapat dinyatakan sebagai kedekatan respon sensor terhadap respon lainnya untuk analit yang sama. Sering pula dinyatakan sebagai kesesuaian dalam pengulangan pengukuran, sehingga sering dinyatakan sebagai deviasi dari *mean* atau rata-rata seperti pada persamaan berikut:



$$d_i = |x_i - \bar{x}| \dots\dots\dots 2.5$$

Dimana  $x_i$  adalah respon sensor dan  $\bar{x}$  adalah rata-rata respon sensor. Disamping dengan persamaan diatas, presisi dari respon sensor terhadap analit sering pula dinyatakan dalam ukuran reproduibilitas dari suatu set pengukuran sensor terhadap analit. Oleh karena itu, sering pula dinyatakan dalam bentuk standar deviasi ( $s$ ), baik *standar deviasi relative (RSD)* maupun koefisien varisi ( $CV$ ), seperti yang diberikan pada persamaan berikut:

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{N-1}} \dots\dots\dots 2.6$$

$$RSD = \frac{s}{\bar{x}} \dots\dots\dots 2.7$$

$$CV = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \dots\dots\dots 2.8$$

Dimana  $x_i$  adalah individual sensor respon,  $N$  adalah jumlah pengukuran dan  $\bar{x}$  adalah rata-rata sensor respon. Dengan ukuran standar deviasi ini, maka reproduibilitas dan repeatabilitas dari sensor respon bisa diukur. Dalam hal ini, repeatabilitas dapat dinyatakan sebagai kepresisian respon sensor terhadap analit yang diukur pada waktu dan kondisi yang sama. Sedangkan, reproduibilitas dapat dinyatakan sebagai kepresisian respon sensor terhadap analit yang diukur pada waktu yang berbeda dan kondisi yang relatif sama (Kuswandi, 2010).

#### 2.8.4. Akurasi

Akurasi sering dinyatakan sebagai kedekatan respon sensor terhadap nilai sebenarnya (*closeness of sinyal to the true or accepted value*). Dengan bahasa yang sama, dapat dinyatakan pula bahwa akurasi adalah kesesuaian antara rata-rata respon sensor terhadap nilai yang sebenarnya. Oleh karenanya, untuk mengukur akurasi, sering digunakan tingkat kesalahan baik kesalahan absolut ( $E$ ) maupun kesalahan relatif ( $Er$ ), seperti yang diberikan pada persamaan berikut:

$$E = x_i - x_t \dots \dots \dots 2.9$$

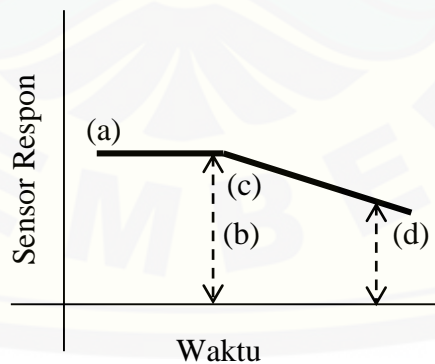
$$E_r = \frac{x_i - x_t}{x_t} \times 100\% \dots \dots \dots 2.10$$

Dimana,  $x_i$  adalah nilai individual respon sensor,  $x_t$  adalah nilai respon yang sebenarnya. Sering pula  $E_r$  dinyatakan sebagai prosentase kesalahan karena dinyatakan dalam prosen (Kuswandi, 2010).

#### 2.8.5. Waktu Respon dan Waktu Pakai

Waktu respon dapat dinyatakan sebagai waktu antara pertama kali sensor direaksikan dengan sampel (bisa dicelupkan, diekpos atau dialirkan) dan waktu pertama kali respon sensor menghasilkan sinyal yang stabil (*steady-state*). Sering pula dinyatakan sebagai waktu sensor memberikan responnya sebesar 90% ( $t_{90}$ ) dari total sinyal yang dihasilkan (Kuswandi, 2010).

Sedangkan waktu pakai sensor, dapat dinyatakan sebagai waktu dimana sensor tersebut memberikan reaksi yang sama dan stabil terhadap suatu analit pada konsentrasi yang sama hingga waktu respon sensor tersebut terhadap analit mengalami penurunan drastis (biasanya lebih dari 15% dari respon sensor semula/awal) (Kuswandi, 2010).



Gambar 2.3. Waktu pakai sensor yang dapat ditentukan mulai (a) hingga batas (b) Waktu pakai mulai turun pada (c) hingga (d)

Pada gambar di atas terlihat bahwa setelah selang waktu tertentu respon sensor menurun secara drastis. Maka pada waktu tersebut dapat dinyatakan sebagai waktu pakai sensor. Dengan cara ini, maka dapat ditentukan berapa lama dan berapa kali suatu sensor kimia dapat digunakan untuk pengukuran suatu analit (Kuswandi, 2010).

#### 2.8.6. Selektivitas (Interferensi)

Dalam setiap analisis, kita menginginkan respon sensor yang spesifik terhadap analit tertentu. Meskipun demikian, biasanya sinyal yang dihasilkan adalah sumbangan dari semua spesies yang ada dalam sampel (Kuswandi, 2010). Interferensi sering dinyatakan sebagai derajat penyimpangan (*degree of bias*) metode terhadap sampel yang mengandung bahan yang ditambahkan berupa cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya, dan dibandingkan terhadap hasil analisis sampel yang tidak terkandung bahan lain yang ditambahkan (Harmita, 2004).

### 2.9. Tinjauan tentang Kunyit (*Curcuma longa* L.)

Kunyit, *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae) adalah tanaman tropis yang banyak terdapat di benua Asia yang secara ekstensif dipakai sebagai zat pewarna dan pengharum makanan. Selain itu, kunyit digunakan sebagai bahan baku obat dan sebagai bumbu dapur. Studi kimia menunjukkan bahwa di dalam tanaman kunyit mengandung minyak atsiri 4,2-14%, minyak lemak 4,4-12,7% dan senyawa kurkuminoid 60-70% (Simanjuntak, 2012). Tanaman ini mempunyai senyawa aktif yaitu kurkumin yang berpotensi sebagai antioksidan (Widowati dkk., 2016).

Klasifikasi tanaman kunyit adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Subkingdom : Viridiplantae  
Infra kingdom : Streptophyta  
Superdivision : Embryophyta  
Division : Tracheophyta  
Subdivision : Spermatophytina  
Class : Magnoliopsida  
Superorder : Lilianae  
Order : Zingiberales  
Family : Zingiberaceae  
Genus : *Curcuma* L.  
Species : *Curcuma longa* L. (ITIS, 2018a)

Kunyit memiliki beberapa aktivitas, salah satunya yaitu sebagai antioksidan. Senyawa kurkumin dan tiga senyawa turunannya (demetoksikurkumin, bisdemetoksi kurkumin dan diasetilkurkumin) dapat melindungi hemoglobin dari oksidasi yang diinduksi oleh nitrit, kecuali diasetilkurkumin yang memperlihatkan sedikit efek dalam penghambatan oksidasi hemoglobin. Leksmi (2012) melakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS untuk melihat aktivitas *scavenging* radikal ABTS. Nilai IC<sub>50</sub> untuk ekstrak turmerin sebesar 83 µg/ml (Lekshmi dkk., 2012).

#### **2.10. Tinjauan tentang Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)**

Daun jambu biji telah banyak digunakan dan diolah secara tradisional yang ditambahkan oleh masyarakat secara luas. *Psidium guajava* L. banyak digunakan untuk tanaman obat di negara tropis dan subtropis (Anand dkk., 2016). Daun jambu biji kaya akan senyawa flavonoid, khususnya, kuersetin. Sebagian besar aktivitas jambu biji dikaitkan dengan senyawa flavonoid ini. Flavonoid telah menunjukkan

aktivitas antibakteri. Kuersetin dianggap berkontribusi terhadap efek antidiare jambu biji yang dapat mengendurkan otot polos usus dan menghambat kontraksi usus. Selain itu, flavonoid dan triterpen lainnya dalam daun jambu biji menunjukkan aktivitas antispasmodik (Vyas dkk., 2010).

Klasifikasi tanaman jambu biji adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Subkingdom : Viridiplantae  
Infrakingdom : Streptophyta  
Superdivision : Embryophyta  
Division : Tracheophyta  
Subdivision : Spermatophytina  
Class : Magnoliopsida  
Superorder : Rosanae  
Order : Myrtales  
Family : Myrtaceae  
Genus : *Psidium*  
Species : *Psidium guajava* L. (ITIS, 2018b)

*P. guajava* sebagai antioksidan memiliki senyawa kuersetin terisolasi dan dua kuersetin glikosida (avicularin dan guajaverin) yang memiliki aktivitas penghambatan urease. Kuersetin memiliki aktivitas *free radical scavenging* sekitar empat kali lebih tinggi daripada morin dan dua kali lebih tinggi daripada *quercetin-3-O-glucopyranoside*. Daya reduksi kuersetin adalah delapan kali lebih tinggi daripada morin dan dua kali lebih tinggi daripada *quercetin-3-O-glucopyranoside*. Ini menegaskan bahwa kuersetin adalah senyawa aktif dari jambu biji yang lebih berperan sebagai antioksidan (Anand dkk., 2016). Dalam penelitian Thenmozi (2015), aktivitas antioksidan ditentukan menggunakan metode ABTS dan diukur menggunakan spektrofotometer. Hasil penelitian memperlihatkan nilai IC<sub>50</sub> untuk ekstrak daun *P. Guajava* dalam air dan alcohol adalah 59,21 dan 61,28 µg/ml (Thenmozhi dan Rajan, 2015).



### 2.11. Tinjauan tentang Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.)

Secang (*Caesalpinia sappan* L.) merupakan tumbuhan perdu yang sering digunakan dalam pengobatan tradisional yang Ditambahkan di Asia. Bagian tanaman secang yang sering digunakan adalah kayu dalam potongan-potongan atau serutan kayu (Utari dan Djaeni, 2017). Kayu secang dilaporkan memiliki khasiat sebagai obat antikonvulsan, anti-komplementer, modulasi fungsi kekebalan, hepatoprotektif, antiinflamasi, sitotoksik, hipoglikemik dan beberapa aktivitas biologis lainnya. Kayu secang mengandung beberapa senyawa triterpenoid, flavonoid, fenolik, dan steroid (Badami dkk., 2003).

Klasifikasi tanaman secang adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Superdivision	: Embryophyta
Division	: Tracheophyta
Subdivision	: Spermatophytina
Class	: Magnoliopsida
Superorder	: Rosanae
Order	: Fabales
Family	: Fabaceae
Genus	: <i>Caesalpinia</i> L.
Species	: <i>Caesalpinia sappan</i> L. (ITIS, 2018c)

Kayu secang mengandung lima senyawa aktif yang terkait dengan flavonoid. Lima senyawa tersebut berupa *brazilein*, *3'-O-metilbrazilin*, *sappanin*, *chalcone*, dan *sappanalcone* yang dapat digunakan sebagai antioksidan primer maupun antioksidan sekunder. *Brazilein* termasuk ke dalam golongan flavonoid sebagai *homoisoflavonoid*. Senyawa flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan, yakni meredam atau menghambat pembentukan radikal bebas hidroksil, anion superoksida, radikal peroksil, radikal alkoksil, singlet oksigen, dan hidrogen

peroksida (Utari dan Djaeni, 2017). Aktivitas antioksidan ditentukan menggunakan larutan DPPH dan absorbansi setiap larutan diukur menggunakan ELISA *micro plate reader*. Hasil memperlihatkan nilai  $IC_{50}$  kayu secang dalam metanol sebesar 1,44  $\mu\text{g/ml}$  dan dalam air sebesar 4,09  $\mu\text{g/ml}$  (Badami dkk., 2003).



### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian *experimental laboratories* yang bertujuan untuk mengembangkan sensor antioksidan dengan menggunakan ABTS yang diimmobilisasi pada kertas.

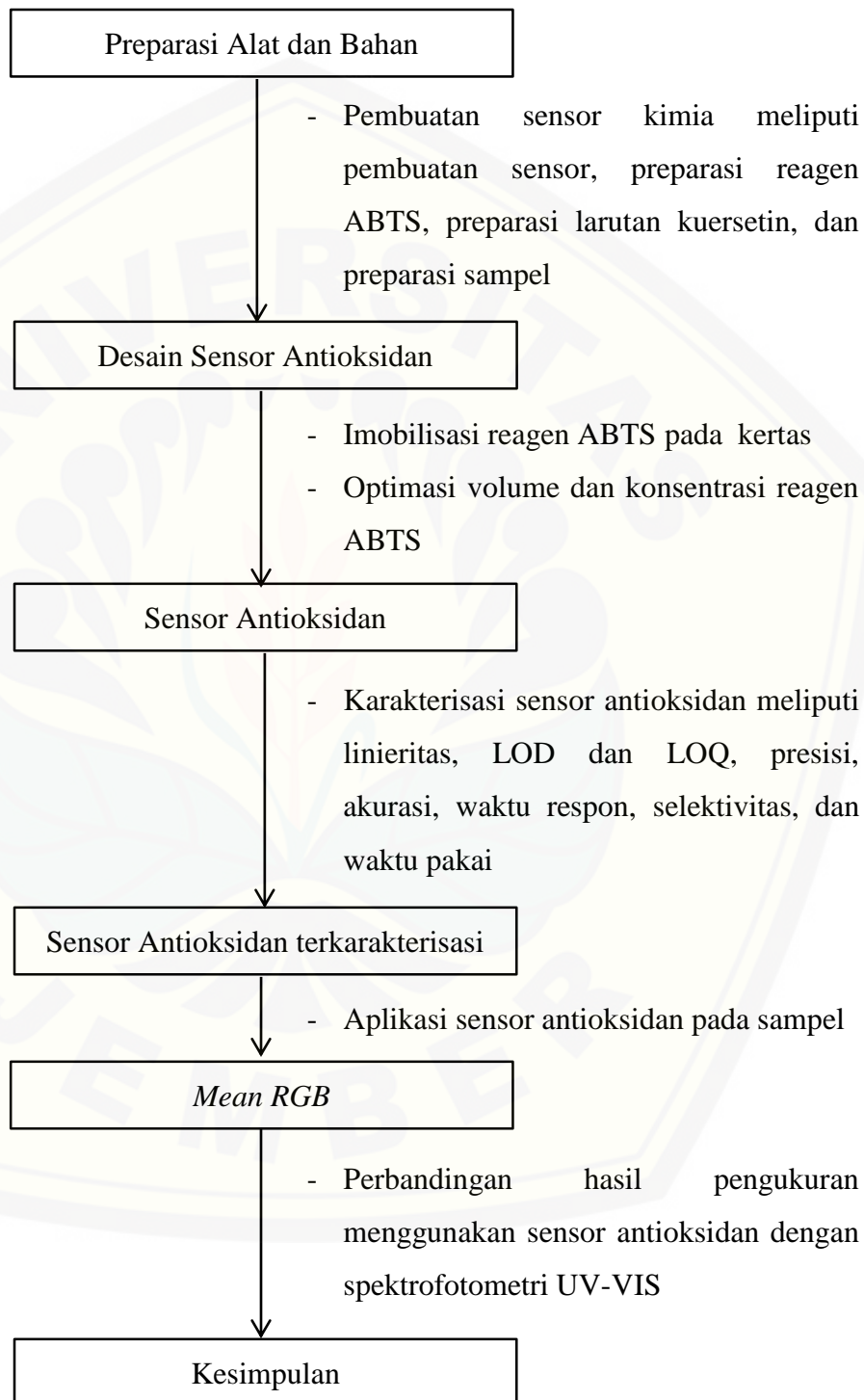
#### 3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Jember mulai bulan Maret 2018 sampai selesai.

#### 3.3. Definisi Operasional

- a. Reagen ABTS menggunakan campuran larutan ABTS dengan larutan Kalium Persulfat ( $K_2O_8S_2$ ).
- b. Sensor antioksidan adalah sensor kimia optik yang dibuat dengan mengimmobilisasi reagen ABTS ke dalam kertas.
- c. Aktivitas antioksidan adalah kemampuan suatu senyawa untuk menurunkan intensitas warna hijau-biru sensor antioksidan.
- d. Rerata nilai intensitas warna merah-hijau-biru adalah *mean* RGB (*red-green-blue*) yang diukur menggunakan aplikasi *ImageJ*.

### 3.4. Alur Penelitian



Gambar 3.1. Diagram Alur Penelitian

### 3.5. Alat dan Bahan yang Digunakan

#### 3.5.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain labu ukur, gelas ukur, vial, botol, erlenmeyer, gunting, aluminium foil, pipet tetes, *eppendorf*, neraca analitik, mikropipet, *yellow tip*, *blue tip*, *white tip*, kertas saring, *vortex* (*Thermo Scientific® M16710-33 Maxi Mix*), *hair dryer* (*Philips SalonCompact 400 W*), ultrasonic (*Elmasonic S 180 H*), *stopwatch*, *scanner* (*Cannon Lide 110 Canoscan*), software *ImageJ* 1.46r (<http://imagej.nih.gov/ij>), kuvet, dan spektrofotometer UV-VIS (*Thermo Scientific GENESYS 10S*).

#### 3.5.2. Bahan

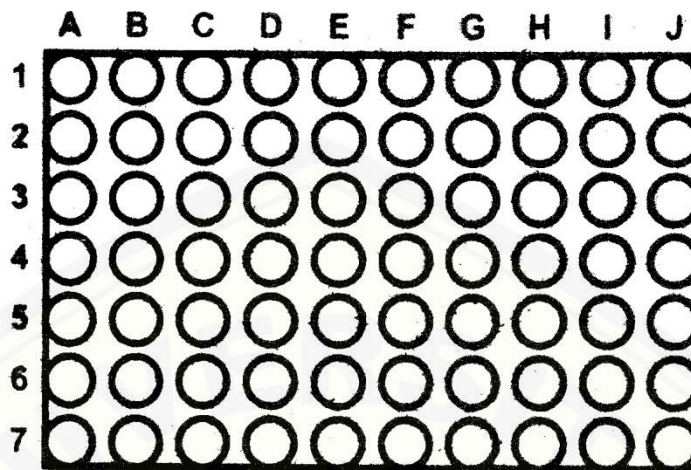
Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain standar kuersetin, ABTS, kalium persulfat, metanol *p.a.*, *aquadest*, dan sampel (serbuk kunyit (*Curcuma longa* L.), serbuk jambu biji (*Psidium guajava* L.), dan serbuk kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) yang diperoleh dari Laboratorium Biologi Farmasi.

### 3.6. Pembuatan Sensor Kimia

#### 3.6.1. Pembuatan Sensor Berbasis Kertas

Kertas yang digunakan untuk sensor adalah kertas *Whatman™* No. 1 dengan diameter 125 mm. Lembar kerja yang digunakan memiliki 70 lubang dengan penataan 10 kolom dan 7 baris seperti pada Gambar 3.2. Setiap lubang memiliki diameter 0,6 cm. Tinta yang digunakan dalam sensor ini adalah pasta karet. Area kerja sensor berada di dalam setiap lubang lingkaran.





Gambar 3.2. Desain sensor berbasis kertas (*Paper Microzone Plate*)

### 3.6.2. Preparasi Reagen ABTS

Larutan ABTS dan larutan  $K_2O_8S_2$  dibuat secara terpisah. Larutan ABTS 14 mM dibuat dengan menimbang 76,818 mg ABTS, dilarutkan dalam 10 ml *aquadest* ke dalam labu ukur 10 ml hingga tanda batas. Larutan  $K_2O_8S_2$  4,9 mM dibuat dengan menimbang 13,246 mg  $K_2O_8S_2$ , kemudian dilarutkan dalam 10 ml *aquadest* dalam labu ukur sampai tanda batas. Larutan disimpan pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya.

Reagen ABTS dibuat dengan mencampurkan larutan ABTS dan larutan  $K_2O_8S_2$  dengan perbandingan 1:1 ke dalam *ependorf* yang telah dibungkus dengan aluminium foil. Kemudian, campuran divortex selama 1 menit dan disimpan selama 3 jam. Reagen ABTS siap digunakan untuk pengujian antioksidan.

### 3.6.3. Preparasi Larutan Induk Kuersetin

Larutan induk kuersetin dibuat dua larutan induk dengan konsentrasi 10 dan 20 mM. Larutan induk kuersetin I 10 mM dibuat dengan menimbang 30,224 mg kuersetin, kemudian dilarutkan dalam 10 ml metanol *p.a.* dalam labu ukur sampai tanda batas. Larutan induk kuersetin II 20 mM dibuat dengan menimbang 60,448 mg

kuersetin, kemudian dilarutkan dalam 10 ml metanol *p.a.* dalam labu ukur sampai tanda batas.

#### 3.6.4. Preparasi Larutan Standar Kuersetin

Larutan induk kuersetin I 10 mM dipipet sejumlah 100, 200, dan 400  $\mu\text{L}$  menggunakan mikropipet, kemudian dilarutkan dalam 10 mL metanol *p.a.* dalam labu ukur sehingga diperoleh larutan kuersetin dengan konsentrasi 0,1; 0,2; dan 0,4 mM. Larutan induk kuersetin II 20 mM dipipet sejumlah 300, 400, dan 500  $\mu\text{L}$  menggunakan mikropipet, kemudian dilarutkan dalam 10 mL metanol *p.a.* dalam labu ukur sehingga diperoleh larutan kuersetin dengan konsentrasi 0,6; 0,8; dan 1mM.

#### 3.6.5. Preparasi Sampel

Preparasi sampel ekstrak dilakukan dengan menimbang sampel (serbuk daun jambu biji, serbuk rimpang kunyit, dan serbuk kayu secang) sebanyak 0,1mg, dilarutkan dalam 10 ml metanol sampai tanda batas. Kemudian, diultrasonik selama 10 menit dan disaring menggunakan kertas saring. Setelah itu, filtrat dipisahkan dari residu dengan penyaringan menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh siap digunakan untuk analisis penentuan aktivitas antioksidan.

### 3.7. Optimasi Sensor Kimia

#### 3.7.1. Optimasi Volume Reagen ABTS pada Kertas

Beberapa macam volume larutan reagen ABTS yakni 1, 2, 3, dan 4  $\mu\text{L}$ , masing-masing ditambahkan ke dalam sensor antioksidan. Dari volume reagen tersebut dipilih volume larutan yang tidak keluar dari lubang kertas dan warna yang dihasilkan merata.

### 3.7.2. Optimasi Konsentrasi Reagen ABTS

Reagen ABTS dibuat dengan mencampurkan larutan ABTS dan larutan  $K_2O_8S_2$ . Larutan ABTS dibuat konsentrasi tertentu yaitu 7 mM dan 14 mM. Larutan  $K_2O_8S_2$  dibuat konsentrasi tertentu yaitu 2,45 mM dan 4,9 mM.

Tabel 3.1. Perbandingan Konsentrasi Reagen ABTS

Konsentrasi ABTS (mM)	Konsentrasi $K_2O_8S_2$ (mM)
3,5	1,225
7	2,45
14	4,9
21	7,35

Masing-masing larutan dicampurkan seperti perbandingan di atas dengan cara memipet sebanyak 100  $\mu$ L dan dimasukkan dalam *ependorf*. Kemudian, dikocok menggunakan vortex selama 1 menit dan disimpan selama 3 jam. Setelah itu, campuran larutan ditambahkan pada sensor antioksidan sebanyak 3  $\mu$ L. Konsentrasi reagen ABTS yang digunakan adalah konsentrasi yang memberikan warna hijau-biru yang signifikan dan memiliki nilai slope dan r yang baik.

## 3.8. Karakterisasi Sensor Antioksidan

### 3.8.1. Waktu Respon

Penentuan waktu respon menggunakan larutan standar kuersetin konsentrasi 0,4 mM ditambahkan ke dalam sensor antioksidan dengan replikasi sebanyak tiga kali. Pengukuran perubahan warna dilakukan setiap 2 menit. Kemudian, dibuat kurva hubungan antara waktu (menit) dengan nilai *mean RGB* pada masing-masing replikasi. Waktu respon dilihat dari waktu yang memberikan respon sensor yang relatif konstan.

### 3.8.2. Linieritas

Penentuan linieritas dilakukan dengan menambahkan larutan standar kuersetin dengan konsentrasi 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1 mM ke dalam sensor antioksidan, kemudian diukur perubahan warnanya. Setelah diperoleh nilai *mean RGB*nya, dibuat kurva hubungan antara konsentrasi standar kuersetin dengan nilai *mean RGB*. Hubungan linieritas dilihat dari parameter koefisien korelasi ( $r$ ). Koefisien korelasi dihitung menggunakan analisis regresi linier  $y=bx + a$ , dimana hubungan linier akan ideal bila harga  $r$  mendekati +1 atau -1.

### 3.8.3. Batas Deteksi dan Batas Kuantifikasi

Penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ) dilakukan dengan menambahkan larutan standar kuersetin dengan konsentrasi 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1 mM ke dalam sensor antioksidan, kemudian diukur perubahan warnanya. Setelah diperoleh nilai *mean RGB*nya, dibuat kurva antara konsentrasi standar kuersetin dengan nilai *mean RGB* dan diperoleh persamaan regresi. Perhitungan LOD dan LOQ dilakukan dengan menggunakan persamaan 2.5-2.6.

### 3.8.4. Presisi

Presisi dilakukan dengan menggunakan larutan standar kuersetin 0,4 mM ditambahkan ke dalam sensor antioksidan. Pengukuran perubahan warna dilakukan dari enam kali pengulangan pada standar kuersetin. Penentuan presisi dengan cara menghitung standar deviasi relatif (RSD) dari enam kali pengulangan. Pengukuran dianggap memiliki presisi yang baik jika nilai RSD <2%.

### 3.8.5. Akurasi

Penentuan akurasi dengan menambahkan analit yang telah diketahui konsentrasinya ke dalam sampel dengan tiga kali penambahan. Sampel ditambahkan analit dengan konsentrasi 30, 45, dan 60% dari konsentrasi sampel hasil pengukuran presisi. Kemudian, ditambahkan ke dalam sensor antioksidan. Akurasi ditentukan

dengan mengukur nilai *mean RGB* pada sampel yang telah ditambah dengan standard sebagai nilai hasil pengukuran dibandingkan dengan nilai teoritis, kemudian dihitung % *recovery* seperti pada Persamaan 2.9-2.10.

#### 3.8.6. Selektivitas (Interferensi)

Penentuan selektivitas (interferensi) dengan membandingkan hasil analisis sampel yang mengandung komponen pengganggu dan hasil pengukuran sampel tanpa pengganggu. Komponen pengganggu yang digunakan adalah gula, nipagin, dan amilum. Penentuan interferensi menggunakan larutan standar kuersetin konsentrasi 0,8 mM yang ditambahkan komponen pengganggu, masing-masing dengan perbandingan 1:0,1 dan 1:1. Larutan pengganggu dibuat dengan menimbang komponen pengganggu sebesar 24,1792 mg sebanyak dua kali untuk membuat larutan induk dan larutan pengganggu untuk perbandingan 10, kemudian dilarutkan dalam 10 mL *aquadest* dalam labu ukur sampai tanda batas. Larutan pengganggu induk dipipet sebanyak 100 dan 1000  $\mu\text{L}$  menggunakan mikropipet. Kemudian, dilarutkan dalam 10 mL *aquadest* dalam labu ukur sampai tanda batas untuk membuat larutan pengganggu dengan perbandingan 0,1 dan 1. Penentuan interferensi dilakukan dengan mencampurkan 500  $\mu\text{L}$  standar 0,8 mM dengan 500  $\mu\text{L}$  larutan pengganggu, kemudian campuran larutan ditambahkan ke dalam sensor antioksidan. Kemudian, diukur nilai *mean RGB*nya.

#### 3.8.7. Waktu Pakai

Penentuan waktu pakai ditentukan dengan menambahkan standar kuersetin konsentrasi 0,4 mM sebanyak volume tertentu, kemudian disimpan pada suhu kamar  $\pm 25^{\circ}\text{C}$  dan suhu *chiller*  $\pm 4^{\circ}\text{C}$ . Sensor diamati mulai dari pertama kali disimpan hingga diketahui sudah tidak layak digunakan. Sensor sudah tidak layak pakai jika memiliki nilai *mean RGB* lebih dari 15% dibandingkan dengan nilai *mean RGB* pada awal pengukuran. Pengukuran perubahan warna dilakukan setiap 1 jam pada suhu kamar



$\pm 25^{\circ}\text{C}$  dan setiap 24 jam pada suhu lemari es  $\pm 4^{\circ}\text{C}$ . Penentuan waktu pakai dibuat kurva hubungan antara waktu dengan hasil intensitas warna.

### 3.9. Aplikasi Sensor Antioksidan dalam Penentuan Aktivitas Antioksidan

Aplikasi ini dilakukan dengan menambahkan larutan sampel sebanyak 3  $\mu\text{L}$  ke dalam sensor antioksidan. Perubahan warna diukur menggunakan *scanner* dan dihasilkan nilai *mean RGB*nya. Nilai *mean RGB* dimasukkan ke dalam persamaan regresi (y) kurva standar kuersetin antara konsentrasi standar ABTS dengan hasil *mean RGB* dan diperoleh kadar sampel (x) yang setara dengan mM kuersetin ekuivalen. Hasil pengukuran perubahan warna pada kertas dibandingkan dengan hasil pengukuran menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

Metode yang digunakan sebagai pembanding adalah metode spektrofotometri UV-Vis. Larutan standar kuersetin 500  $\mu\text{L}$  berbagai konsentrasi ditambahkan dengan reagen ABTS 500  $\mu\text{L}$ , kemudian diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 415 nm.

### 3.10. Analisis Metode

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan membandingkan nilai kuersetin ekuivalen antara metode ABTS pada kertas dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari pengukuran aktivitas antioksidan melalui kuersetin ekuivalen digunakan uji T.

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Kondisi optimal sensor antioksidan meliputi volume reagen optimal adalah 3 $\mu$ l dan konsentrasi reagen optimal adalah campuran larutan ABTS 14 mM dan K<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub> 4,9 mM.
2. Karakterisasi sensor antioksidan
  - a. Waktu respon sensor antioksidan untuk bereaksi serta memberikan respon yang stabil adalah 8 menit.
  - b. Linieritas metode sensor antioksidan berada pada rentang 0,1-1 mM dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9997, nilai V<sub>x0</sub> (RSD) sebesar 1,255%, dan persamaan regresi yang diperoleh sebesar  $y = 54,831x + 7,0289$ .
  - c. Batas deteksi (LOD) sensor kertas sebesar 0,035 mM QE dan batas kuantitasi (LOQ) sensor yaitu sebesar 0,104 mM QE.
  - d. Metode sensor antioksidan memenuhi parameter presisi dengan nilai presisi sebesar 1,679 %.
  - e. Metode sensor antioksidan memenuhi parameter akurasi dengan nilai %*recovery* sebesar 96,587 % untuk ekstrak daun jambu merah; 97,422 % untuk ekstrak daun jambu putih; 102,211 % untuk ekstrak kayu secang, dan 101,284 % untuk ekstrak rimpang kunyit.
  - f. Metode sensor antioksidan akan terganggu dengan adanya sukrosa, amilum, dan nipagin dengan perbandingan berat 1:0,1.
  - g. Metode sensor kertas untuk kuersetin stabil dalam penyimpanan suhu dingin ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ) selama 2 hari dan stabil pada suhu ruang ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ) selama 2 jam.
3. Metode sensor antioksidan pada deteksi aktivitas antioksidan ekstrak rimpang kunyit, ekstrak daun jambu biji, dan ekstrak kayu secang tidak memberikan

perbedaan yang signifikan dibandingkan metode Spektrofotometri UV-Vis sehingga dapat digunakan sebagai metode alternatif untuk penentuan kuersetin pada sampel.

## 5.2. Saran

Penelitian “Sensor Berbasis Kertas dengan Reagen ABTS untuk deteksi aktivitas antioksidan pada sampel ekstrak daun jambu biji, ekstrak kayu secang, dan ekstrak kunyit” masih membutuhkan studi lebih lanjut tentang waktu pakai. Oleh karena itu diharapkan penelitian selanjutnya dapat menghasilkan sensor dengan waktu pakai yang lebih lama sehingga dapat diaplikasikan untuk masyarakat umum.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Amelia, F. R. 2015. Penentuan jenis tanin dan penetapan kadartanin dari buah bungur muda (*Lagerstroemia speciosa* pers.) secara spektrofotometri dan permanganometri. *Calyptra: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. 4(2):1–20.
- Anand, V., Manikandan, V. Kumar, S. Kumar, Pushpa, dan A. Hedina. 2016. Phytopharmacological overview of *Psidium guajava* l. *Pharmacognosy Journal*. 8(4):314–320.
- Arnao, M. B. 2001. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals : a practical case. *Trends in Food Science & Technology*. 11(2000):419–421.
- Astuti, S. 2008. Isoflavon kedelai dan potensinya sebagai penangkap radikal bebas. *Teknologi Industri Dan Hasil Pertanian*. 13(2):126–136.
- Badami, S., S. Moorkoth, S. R. Rai, E. Kannan, dan S. B. Bhojraj. 2003. Antioxidant activity of *Caesalpinia sappan* heartwood. *Biol. Pharm. Bull.* 26(11):1534–1537.
- Carrilho, E., S. T. Phillips, S. J. Vella, A. W. Martinez, dan G. M. Whitesides. 2009. Paper microzone plates. *Analytical Chemistry*. 81(15):5990–5998.
- Cholisoh, Z. dan W. Utami. 2008. Aktivitas penangkap radikal ekstrak ethanol 70% biji jengkol (*Archidendron jiringa*). *Pharmacon*. 9(1):33–40.
- Djeridane, A., M. Yousfi, B. Nadjemi, D. Boutassouna, P. Stocker, dan N. Vidal. 2006. Food chemistry antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. 97(97):654–660.
- Farissi, R. F., S. Wardatun, dan M. Miranti. 2015. Penentuan flavonoid, polifenol, kapasitas antioksidan ekstrak buah dan sari buah pepaya california (*Carica papaya* l.). *Farmasi FMIPA UNPAK*

- Gani, A. A., M. A. Hidayat, dan B. Kuswandi. 2015. Pengembangan biosensor antioksidan berbasis 3-metil-2-benzothiozolin hidrazon (MBTH) dan enzim polyphenol oxidase (PPO) untuk kontrol kualitas serbuk kopi. *Prosiding Seminar Nasional Kimia*. 1–6.
- Halliwell, B. 2011. Free radicals and antioxidants – quo vadis? *Trends in Pharmacological Sciences*. 32(3):125–130.
- Harmita. 2004. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. I(3):117–135.
- Huber, Ludwig. 2007. *Validation and Qualification in Analytical Laboratories*. Second Edition. New York. London.
- ITIS. 2018a. *Curcuma longa* L.  
[https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=42394#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=42394#null) [Diakses pada April 15, 2018].
- ITIS. 2018b. *Psidium guajava* L.  
[https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=27240#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=27240#null) [Diakses pada April 15, 2018].
- ITIS. 2018c. *Caesalpinia sappan* L.  
[https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=506349#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=506349#null) [Diakses pada April 15, 2018].
- Kao, Lilian S. 2008. Analysis of variances: is there a difference in means and what does it mean?. *NIH Public Access*. 144(1). 158-170.
- Kumar, V., M. Lemos, M. Sharma, dan V. Shriram. 2013. Free radicals and antioxidants antioxidant and dna damage protecting activities of *Eulophia nuda*. *Free Radicals and Antioxidants*. 3:55–60.
- Kuswandi, B. 2010. *Sensor Kimia*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Lekshmi, P. C., R. Arimboor, K. G. Raghu, dan A. N. Menon. 2012. Turmerin, the antioxidant protein from turmeric (*Curcuma longa*) exhibits antihyperglycaemic effects. *Natural Product Research*. 26(17):1654–1658.



- Marksa, M., J. Radušien, dan V. Jakštas. 2015. Natural product research : formerly natural product letters development of an hplc post- column antioxidant assay for *Solidago canadensis* radical scavengers. *Natural Product Research*. (April):37–41.
- Moon, J. K. dan T. Shibamoto. 2009. Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57(5):1655–1666.
- Neldawati, Ratnawulan, dan Gusnedi. 2013. Analisis nilai absorbansi dalam penentuan kadar flavonoid untuk berbagai jenis daun tanaman obat. *Pillar Physics*. 2:76–83.
- Noer, S., R. D. Pratiwi, dan E. Gresinta. 2018. Penetapan kadar senyawa fitokimia (tanin , saponin dan flavonoid sebagai kuersetin) pada ekstrak daun inggu (*Ruta angustifolia* l.). *Eksakta: Jurnal Ilmu-Ilmu IPA*. 19–29.
- Pisoschi, A. M. dan G. P. Negulescu. 2011. Biochemistry & analytical biochemistry methods for total antioxidant activity determination : a review. *Biochemistry and Analytical Biochemistry*. 1(1):1–10.
- Poprac, P., K. Jomova, M. Simunkova, V. Kollar, C. J. Rhodes, dan M. Valko. 2017. Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. *Trends in Pharmacological Sciences*. xx:1–16.
- Rahmawati, G., F. N. Rachmawati, dan H. Winarsi. 2014. Aktivitas superoksida dismutase tikus diabetes yang diberi ekstrak batang kapulaga dan glibenklamid. *Scripta Biologica*. 1(3):197–201.
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, dan C. R. Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26(98):1231–1237.
- Redha, A. 2010. Flavonoid : struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis. *Jurnal Berlian*. 9(2):196–202.
- Sayuti, K. dan R. Yenrina. 2015. *Antioksidan Alami Dan Sintetik*. Edisi I. Padang: Andalas University Press.



- Serlahwaty, D. dan A. N. Sevian. 2016. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% kombinasi buah strawberry dan tomat dengan metode ABTS. *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia Ke-50*. (April 2016):20–21.
- Shalaby, E. A. dan S. M. M. Shanab. 2013. Comparison of dpph and abts assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*. 42(September):556–564.
- Simanjuntak, P. 2012. Studi kimia dan farmakologi tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) sebagai tumbuhan obat serbaguna. *Agrium*. 17(2):103–108.
- Thenmozhi, S. dan S. Rajan. 2015. Reactive oxygen and nitrogen species scavenging activity of *Psidium guajava* (L.) leaf. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 4(1):410–418.
- Utari, F. D. dan M. Djaeni. 2017. Produksi antioksidan dari ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) menggunakan pengering berkelembaban rendah. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 6(3):1–4.
- Vyas, N., M. Tailang, dan N. P. Gavatia. 2010. Antioxidant potential of *Psidium guajava* Linn. *International Journal of PharmTech Research*. 2(1):417–419.
- Wang, C. C., C. Y. Chu, K. O. Chu, K. W. Choy, K. S. Khaw, M. S. Rogers, dan C. P. Pang. 2004. Trolox-equivalent antioxidant capacity assay versus oxygen radical absorbance capacity assay in plasma. *Clinical Chemistry*. 50(5):952–954.
- Widowati, T., H. Sukiman, Bustanussalam, dan P. Simanjuntak. 2016. Isolasi dan identifikasi kapang endofit dari tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) sebagai penghasil antioksidan. *Biopropal Industri*. 7(1):9–16.
- Widowati, W., S. Ratu, R. Rumumpuk, dan M. Siahaan. 2005. Penapisan aktivitas superoksida dismutase pada berbagai tanaman. *JKM*. 5(1):33–48.
- Yuwono, M. & Indrayanto, G. 2005. Validation of Chromatographic Methods of Analysis. In Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology, Elsevier. 32, p.243-259.

Zampini, I. C., R. M. Ordoñez, dan M. I. Isla. 2010. Autographic assay for the rapid detection of antioxidant capacity of liquid and semi-solid pharmaceutical formulations using ABTS • + immobilized by gel entrapment. *AAPS PharmSciTech*. 11(3):2–6.

Zuhra, C. F., J. B. Tarigan, dan H. Sihotang. 2008. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari daun katuk (*Sauropus androgunus* (L.) Merr.). *Biologi Sumatera*. 3(1):10–13.



Lampiran 1. Data Optimasi Volume Reagen

Volume	Gambar	Blanko	Rep 1	Rep 2	Rep 3	$\Delta mean$ RGB 1	$\Delta mean$ RGB 2	$\Delta mean$ RGB 3	Rata-Rata
2 $\mu$ L		146,273	191,000	191,425	191,482	44,727	45,152	45,209	45,029
3 $\mu$ L		151,246	198,092	199,160	199,302	46,846	47,914	48,056	47,605

Lampiran 2. Data Waktu Respon Reagen ABTS

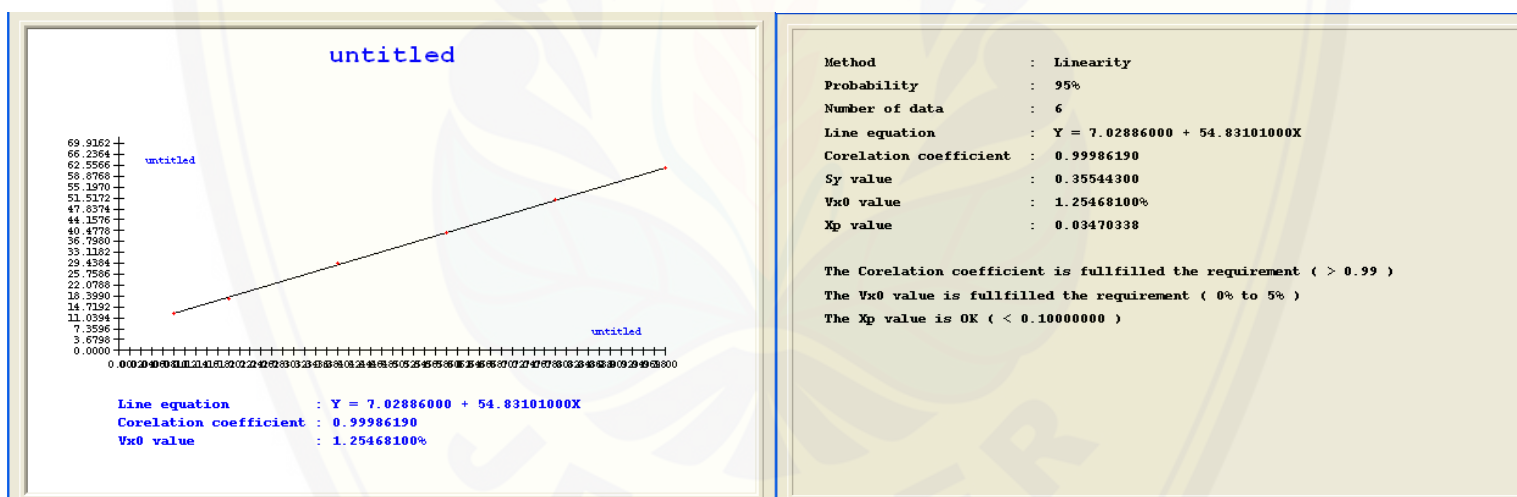
Waktu	Blanko	Rep 1	Rep 2	Rep 3	$\Delta mean$ RGB 1	$\Delta mean$ RGB 2	$\Delta mean$ RGB 3	Rata-rata	SD	RSD
2	131,213	159,738	163,924	159,107	28,526	32,712	27,895	29,711	2,618	1,627
4	131,417	166,041	169,579	165,053	34,624	38,162	33,636	35,474	2,380	1,426
6	131,271	168,383	172,139	167,663	37,112	40,868	36,392	38,124	2,403	1,419
8	131,432	170,008	173,636	174,942	38,574	42,202	43,508	41,428	2,556	1,479
10	132,354	174,251	176,886	172,508	41,897	44,532	40,154	42,194	2,204	1,263
12	132,379	173,416	177,208	173,140	41,037	44,829	40,761	42,209	2,273	1,302

## Lampiran 3. Hasil Uji Linieritas

## 3.1. Data Konsentrasi Sensor Antioksidan

Konsentrasi Standar (mM)	Rep 1	Rep 2	Rep 3	$\Delta mean$ RGB 1	$\Delta mean$ RGB 2	$\Delta mean$ RGB 3	Rata-rata	SD	RSD
Blanko	158,823	156,107	158,412	-	-	-	157,708	1,464	0,928
0,1	170,208	170,300	170,463	12,427	12,519	12,682	12,543	0,129	0,076
0,2	175,054	175,072	175,940	17,273	17,291	18,159	17,575	0,506	0,289
0,4	185,073	187,801	189,041	27,292	30,020	31,260	29,524	2,030	1,084
0,6	195,406	198,093	199,471	37,625	40,312	41,690	39,876	2,067	1,046
0,8	206,961	209,334	209,595	49,180	51,553	51,814	50,849	1,451	0,696
1	219,372	219,501	219,372	61,591	61,720	61,591	61,782	0,228	0,104

## 3.2. Hasil Analisis Menggunakan Program Validasi



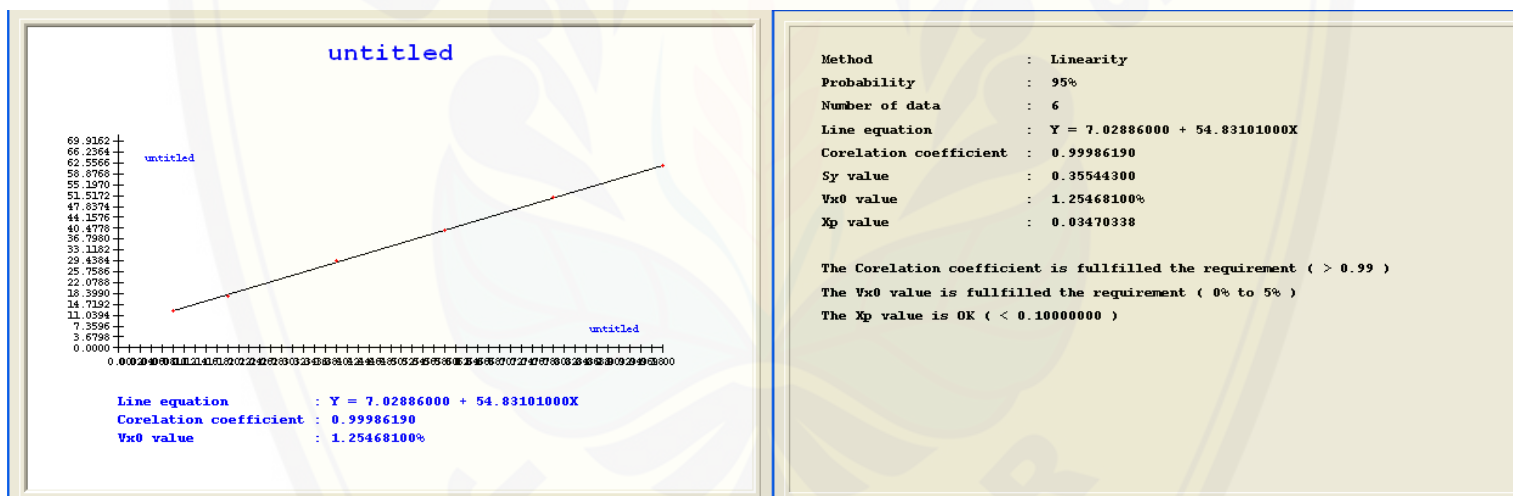


**Lampiran 4. Hasil Analisis LOD dan LOQ**

**4.1. Data Pengukuran LOD dan LOQ Sensor Antiosidan**

Konsentrasi Standar (mM)	Blanko	Rep 1	Rep 2	Rep 3	$\Delta mean$ RGB 1	$\Delta mean$ RGB 2	$\Delta mean$ RGB 3	Rata-rata	SD	RSD
0,1	157,781	170,208	170,300	170,463	12,427	12,519	12,682	12,543	0,129	0,076
0,2	157,781	175,054	175,072	175,940	17,273	17,291	18,159	17,575	0,506	0,289
0,4	157,781	185,073	187,801	189,041	27,292	30,020	31,260	29,524	2,030	1,084
0,6	157,781	195,406	198,093	199,471	37,625	40,312	41,690	39,876	2,067	1,046
0,8	157,781	206,961	209,334	209,595	49,180	51,553	51,814	50,849	1,451	0,696
1	157,781	219,372	219,501	219,372	61,591	61,720	61,591	61,782	0,228	0,104

**4.2. Hasil Penentuan LOD dan LOQ Menggunakan Program Validasi**



<b>Method</b>	: <b>DL - QL</b>
<b>Number of data</b>	: <b>6</b>
<b>DL value</b>	: <b>0.03470338</b> □□□□□□□□
<b>QL value</b>	: <b>0.10411010</b> □□□□□□□□

### Lampiran 5. Hasil Pengujian Akurasi Ekstrak Daun Jambu Merah

Persamaan Regresi :  $y = 55,788x + 12,481$

#### 5.1. Perhitungan Massa Teoritis

Hasil Analit (mM)	Massa Analit (mg)	Standar yang Ditambahkan (%)	Konsentrasi (mM)	Massa Standar yang Ditambahkan (mg)	Massa Teoritis (mg)
0,8	2,418	30	0,240	0,725	3,143
0,8	2,418	45	0,360	1,088	3,506
0,8	2,418	60	0,480	1,451	3,869

## 5.2. Perhitungan Massa Percobaan

Standar yang Ditambahkan (%)	Blanko	Mean RGB	$\Delta$ mean RGB	Konsentrasi (mM)	Massa Percobaan (mg)
30	155,941	224,609	68,668	1,007	3,044
		224,786	68,845	1,010	3,054
		224,949	70,008	1,031	3,117
		228,907	72,966	1,084	3,277
45	155,941	229,307	73,366	1,091	3,299
		229,351	73,41	1,092	3,301
		238,245	82,304	1,252	3,783
60	155,941	238,484	82,543	1,256	3,813
		238,795	82,854	1,261	3,796

## 5.3. Perhitungan Akurasi

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{massa percobaan (mg)}}{\text{massa teoritis (mg)}} \times 100\%$$

Standar yang Ditambahkan (%)	Massa Teoritis (mg)	Massa Percobaan (mg)	%Recovery	Rata-Rata	SD	RSD
30	3,143	3,054	97,156	97,722	1,255	1,284
		3,044	96,851			
		3,117	99,160			
		3,277	93,465			
45	3,506	3,299	94,083	93,899	0,378	0,403
		3,301	94,151			
		3,783	97,771			
		3,796	98,106			
60	3,869	3,813	98,541	98,139	0,386	0,393

#### Lampiran 6. Hasil Pengujian Akurasi Ekstrak Daun Jambu Putih

Persamaan Regresi :  $y = 55,788x + 12,481$

##### 6.1. Perhitungan Massa Teoritis

Hasil Analit (mM)	Massa Analit (mg)	Standar yang Ditambahkan (%)	Konsentrasi (mM)	Massa Standar yang Ditambahkan (mg)	Massa Teoritis (mg)
0,8	2,418	30	0,240	0,725	3,143
0,8	2,418	45	0,360	1,088	3,506
0,8	2,418	60	0,480	1,451	3,869

## 6.2. Perhitungan Massa Percobaan

Standar yang Ditambahkan (%)	Blanko	Mean RGB	$\Delta$ mean RGB	Konsentrasi (mM)	Massa Percobaan (mg)
30	155,233	225,287	70,054	1,032	3,199
		225,743	70,510	1,040	3,144
		225,556	70,323	1,037	3,134
45	155,233	229,819	74,586	1,113	3,365
		229,446	74,213	1,107	3,344
		229,211	73,978	1,102	3,332
60	155,233	236,433	81,200	1,232	3,723
		237,365	82,132	1,249	3,773
		237,475	82,242	1,250	3,779

## 6.3. Perhitungan Akurasi

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{massa percobaan (mg)}}{\text{massa teoritis (mg)}} \times 100\%$$



Standar yang Ditambahkan (%)	Massa Teoritis (mg)	Massa Percobaan (mg)	%Recovery	Rata-Rata	SD	RSD
30	3,143	3,119	99,240	99,657	0,395	0,396
		3,144	100,026			
		3,134	99,704			
45	3,506	3,365	95,968	95,463	0,474	0,496
		3,344	95,392			
		3,332	95,029			
60	3,869	3,723	96,226	97,147	0,802	0,825
		3,773	97,531			
		3,779	97,685			

### Lampiran 7. Hasil Pengujian Akurasi Ekstrak Kayu Secang

Persamaan Regresi :  $y = 55,788x + 12,481$

#### 7.1. Perhitungan Massa Teoritis

Hasil Analit (mM)	Massa Analit (mg)	Standar yang Ditambahkan (%)	Konsentrasi (mM)	Massa Standar yang Ditambahkan (mg)	Massa Teoritis (mg)
0,4	1,209	30	0,120	0,363	1,572
0,4	1,209	45	0,180	0,544	1,753
0,4	1,209	60	0,240	0,725	1,934

## 7.2. Perhitungan Massa Percobaan

Standar yang Ditambahkan (%)	Blanko	Mean RGB	$\Delta$ mean RGB	Konsentrasi (mM)	Massa Percobaan (mg)
30	155,233	195,214	39,981	0,493	1,490
		195,805	40,572	0,504	1,522
		195,609	40,376	0,500	1,511
		201,859	46,626	0,612	1,850
45	155,233	200,717	45,484	0,592	1,788
		202,064	46,831	0,616	1,861
		205,204	49,971	0,672	2,031
60	155,233	205,768	50,535	0,682	2,062
		205,865	50,632	0,684	2,067

## 7.3. Perhitungan Akurasi

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{massa percobaan (mg)}}{\text{massa teoritis (mg)}} \times 100\%$$

Standar yang Ditambahkan (%)	Massa Teoritis (mg)	Massa Percobaan (mg)	%Recovery	Rata-Rata	SD	RSD
30	1,572	1,490	94,776	95,908	1,037	1,082
		1,522	96,812			
		1,511	96,137			
45	1,753	1,850	105,526	104,561	2,243	2,145
		1,788	101,997			
		1,861	106,160			
60	1,934	2,031	105,020	106,164	1,000	0,942
		2,062	106,600			
		2,067	106,872			

### Lampiran 8. Hasil Pengujian Akurasi Ekstrak Rimpang Kunyit

Persamaan Regresi :  $y = 55,788x + 12,481$

#### 8.1. Perhitungan Massa Teoritis

Hasil Analit (mM)	Massa Analit (mg)	Standar yang Ditambahkan (%)	Konsentrasi (mM)	Massa Standar yang Ditambahkan (mg)	Massa Teoritis (mg)
0,3	0,907	30	0,090	0,272	1,179
0,3	0,907	45	0,135	0,408	1,315
0,3	0,907	60	0,180	0,544	1,451

## 8.2. Perhitungan Massa Percobaan




Standar yang Ditambahkan (%)	Blanko	Mean RGB	$\Delta$ mean RGB	Konsentrasi (mM)	Massa Percobaan (mg)
30	155,742	189,068	33,326	0,374	1,129
		189,732	33,990	0,386	1,165
		189,805	34,063	0,387	1,169
45	155,742	193,427	37,685	0,452	1,365
		194,008	38,266	0,462	1,397
		194,103	38,361	0,464	1,402
60	155,742	195,430	39,688	0,488	1,474
		194,963	39,221	0,479	1,449
		194,914	39,172	0,478	1,446

## 8.3. Perhitungan Akurasi





$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{massa percobaan (mg)}}{\text{massa teoritis (mg)}} \times 100\%$$

Standar yang Ditambahkan (%)	Massa Teoritis (mg)	Massa Percobaan (mg)	%Recovery	Rata-Rata	SD	RSD
30	1,179	1,129	95,784	97,930	1,866	1,905
		1,165	98,835			
		1,169	99,170			
45	1,315	1,365	103,836	105,563	1,508	1,428
		1,397	106,230			
		1,402	106,621			
60	1,451	1,474	101,583	100,359	1,063	1,060
		1,449	99,839			
		1,446	99,656			

#### Lampiran 9. Hasil Uji Selektivitas (Interferensi)

Komponen	Blanko	Rep 1	Rep 2	Rep 3	$\Delta$ mean RGB 1	$\Delta$ mean RGB 2	$\Delta$ mean RGB 3	Rata-Rata	% Interferensi
 Standar kuersetin 0,4 mM	159,907	194,677	196,750	197,132	34,770	36,843	37,225	36,279	
 Kuersetin 0,8 mM + sukrosa (1:0,1)	159,907	197,132	199,677	199,254	37,225	39,770	39,347	38,781	6,895 %
 Kuersetin 0,8 mM + sukrosa (1:1)	159,907	204,690	204,495	203,759	44,783	44,588	43,852	44,408	22,405%



 Kuersetin 0,8 mM + amilum (1:0,1)	159,907	196,75	199,677	199,254	36,843	39,770	39,347	38,653	6,544%
 Kuersetin 0,8 mM + amilum (1:1)	159,907	200,832	206,566	204,495	40,925	46,659	44,588	44,057	21,439%
 Kuersetin 0,8 mM + nipagin (1:0,1)	152,388	198,154	198,673	199,539	45,766	46,285	47,151	38,882	7,173%
 Kuersetin 0,8 mM + nipagin (1:1)	152,388	204,320	205,061	205,000	51,932	52,673	52,612	44,887	23,725%

### Lampiran 10. Hasil Uji Waktu Pakai (Stabilitas)

#### 10.1. Penyimpanan Suhu Ruang

Jam ke-	Blanko	Rep 1	Rep 2	Rep 3	$\Delta$ mean RGB 1	$\Delta$ mean RGB 2	$\Delta$ mean RGB 3	Rata-rata	%Penurunan
0	159,730	197,245	198,967	199,177	37,515	39,237	39,447	38,733	
1	162,377	194,131	196,601	201,875	31,754	34,224	39,498	35,159	9,228
2	155,966	186,734	187,661	189,733	30,768	31,695	33,767	32,077	17,185
3	170,659	196,033	202,529	202,721	25,374	31,870	32,062	29,769	23,144
4	168,471	186,796	187,500	191,743	18,325	19,029	23,272	20,209	47,826
5	167,843	185,929	187,580	187,618	18,086	19,737	19,775	19,199	50,432

#### 10.2. Penyimpanan Suhu Dingin

Hari ke-	Blanko	Rep 1	Rep 2	Rep 3	$\Delta$ mean RGB 1	$\Delta$ mean RGB 2	$\Delta$ mean RGB 3	Rata-rata	%Penurunan
0	147,867	206,290	207,101	208,484	58,423	59,234	60,617	59,425	
1	147,832	199,589	201,165	201,968	51,757	53,333	54,136	53,075	10,685
2	152,713	200,251	200,445	200,979	47,538	47,732	48,266	47,845	19,486
3	152,715	199,411	199,670	200,663	46,696	46,955	47,948	47,200	20,572
4	146,74	192,058	193,618	194,775	45,318	46,878	48,035	46,744	21,340
5	151,733	189,930	189,957	190,284	38,197	38,224	38,551	38,324	35,508
6	152,398	189,439	191,142	191,31	37,041	38,744	38,912	38,232	35,663

#### Lampiran 11. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Keterangan		Replikasi 1 (mM)	Replikasi 2 (mM)	Replikasi 3 (mM)	Rata-Rata (mM)	SD
Daun Jambu Merah (0,5%)	Sensor Kertas	0,821	0,827	0,828	0,825	0,004
	Spektrofotometri UV-Vis	0,830	0,827	0,826	0,828	0,002
Daun Jambu Putih (1%)	Sensor Kertas	0,829	0,838	0,826	0,831	0,006
	Spektrofotometri UV-Vis	0,818	0,836	0,826	0,827	0,009
Kayu Secang (0,5%)	Sensor Kertas	0,448	0,426	0,401	0,425	0,024
	Spektrofotometri UV-Vis	0,415	0,427	0,431	0,424	0,008
Rimpang Kunyit (1%)	Sensor Kertas	0,300	0,304	0,306	0,303	0,003
	Spektrofotometri UV-Vis	0,301	0,311	0,303	0,305	0,005

**Lampiran 12. Hasil Uji T**

12.1. Sampel Ekstrak Daun Jambu Merah

**Group Statistics**

KELOMPOK	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KONSENTRASI SENSOR	3	.8253	.00379	.00219
SPEKTRO	3	.8277	.00208	.00120

**Independent Samples Test**

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
KONSENTRASI	2.118	.219	-.935	4	.403	-.00233	.00249	-.00926	.00459
Equal variances assumed									
Equal variances not assumed			-.935	3.108	.416	-.00233	.00249	-.01012	.00545

12.2. Sampel Ekstrak Daun Jambu Putih

**Group Statistics**

	KELOMPOK	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KONSENTRASI	SENSOR	3	.8310	.00624	.00361
	SPEKTRO	3	.8267	.00902	.00521

**Independent Samples Test**

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
KONSENTRASI	.245	.646	.684	4	.531	.00433	.00633	-.01325	.02192
Equal variances assumed									
Equal variances not assumed			.684	3.559	.536	.00433	.00633	-.01414	.02281

12.3. Sampel Ekstrak Kayu Secang

Group Statistics

KELOMPOK	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KONSENTRASI SENSOR	3	.4250	.02352	.01358
SPEKTRO	3	.4243	.00833	.00481

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
KONSENTRASI	1.591	.276	.046	4	.965	.00067	.01440	-.03932	.04066
Equal variances assumed									
Equal variances not assumed			.046	2.494	.967	.00067	.01440	-.05091	.05224



12.4. Sampel Ekstrak Rimpang Kunyit

**Group Statistics**

KELOMPOK	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KONSENTRASI SENSOR	3	.3033	.00306	.00176
SPEKTRO	3	.3050	.00529	.00306

**Independent Samples Test**

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
KONSENTRASI Equal variances assumed	1.600	.275	-.472	4	.661	-.00167	.00353	-.01146	.00813
Equal variances not assumed			-.472	3.200	.667	-.00167	.00353	-.01251	.00917