



**PENGEMBANGAN SENSOR BERBASIS KERTAS (*PAPER  
MICROZONE PLATES*) UNTUK PENENTUAN ANTIOKSIDAN  
MENGUNAKAN METODE CUPRAC PADA SEDIAAN  
HERBAL**

**SKRIPSI**

Oleh

**Rizka Illa Chassana**

**NIM 142210101065**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2018**



**PENGEMBANGAN SENSOR BERBASIS KERTAS (*PAPER  
MICROZONE PLATES*) UNTUK PENENTUAN ANTIOKSIDAN  
MENGUNAKAN METODE CUPRAC PADA SEDIAAN  
HERBAL**

**SKRIPSI**

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

Oleh

**Rizka Illa Chassana**

**NIM 142210101065**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2018**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT yang dengan petunjuk, rahmat, hidayah, serta tuntunanNya sehingga memberikan kemudahan dalam pengerjaan skripsi ini, serta Nabi Muhammad SAW sebagai panutan hidup.
2. Ibunda Susi Alisah, Ayahanda Arifin Kusno, Ibunda Siti Munatun dan Adik saya Achmad Ulil Abrar, Khoir dan Fiya yang selalu saya cintai dan sayangi, yang selalu memberikan doa dan dukungannya.
3. Guru-guru saya yang telah memberikan ilmu.
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**MOTTO**

***“Man Jadda Wa Jada”***

(Al Hadits)

**“Rumpun bambu terkuat tumbuh diatas tanah yang keras”**

(MP Pring Kuning)

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Rizka Illa Chassana

NIM : 142210101065

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Pengembangan Sensor Berbasis Kertas (*Paper Microzone Plates*) Untuk Penentuan Antioksidan Menggunakan Metode CUPRAC Pada Sediaan Herbal” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan 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 dana paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 27 Juni 2018

Yang menyatakan,

Rizka Illa Chassana

NIM 142210101065

**SKRIPSI**

**PENGEMBANGAN SENSOR BERBASIS KERTAS (*PAPER MICROZONE PLATES*) UNTUK PENENTUAN ANTIOKSIDAN MENGGUNAKAN METODE CUPRAC PADA SEDIAAN HERBAL**

Oleh

Rizka Illa Chassana

NIM 142210101065

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., PhD.

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

**PENGESAHAN**

Karya ilmiah Skripsi berjudul “Pengembangan Sensor Berbasis Kertas (*Paper Microzone Plates*) Untuk Penentuan Antioksidan Menggunakan Metode CUPRAC Pada Sediaan Herbal” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Penguji :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Prof. Drs. Bambang Kuswandi,

Indah Yulia Ningsih, S. Farm,

M.Sc., PhD.

M.Farm, Apt.

NIP. 196902011994031002

NIP. 198407122008122002

Penguji I,

Penguji II,

Nia Kristiningrum, S. Farm,

Lestyo Wulandari, S.Si,

M.Sc, Apt.

M.Farm., Apt.

NIP.198204062006042002

NIP. 197604142002122001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

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

NIP 197604142002122001

## RINGKASAN

### **Pengembangan Sensor Berbasis Kertas (*Paper Microzone Plates*) Untuk Penentuan Antioksidan Menggunakan Metode CUPRAC Pada Sediaan Herbal;**

Rizka Illa Chassana, 142210101065; 2018: 87 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Peningkatan konsumsi antioksidan alami dalam buah, sayur dan bagian-bagian lain dari tumbuhan terbukti dapat menghindari penyakit degeneratif. Saat ini penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena dapat bersifat racun dan karsinogenik. Sebagai upaya dalam pencarian senyawa antioksidan alami, maka perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan yang cepat, mudah penggunaannya serta harga terjangkau. Sehingga pada penelitian ini bertujuan untuk menentukan cara fabrikasi sensor kimia berbasis kertas dengan metode CUPRAC, menentukan kondisi optimal, menentukan karakteristik analisis serta membandingkan metode sensor CUPRAC dengan metode spektrofotometer.

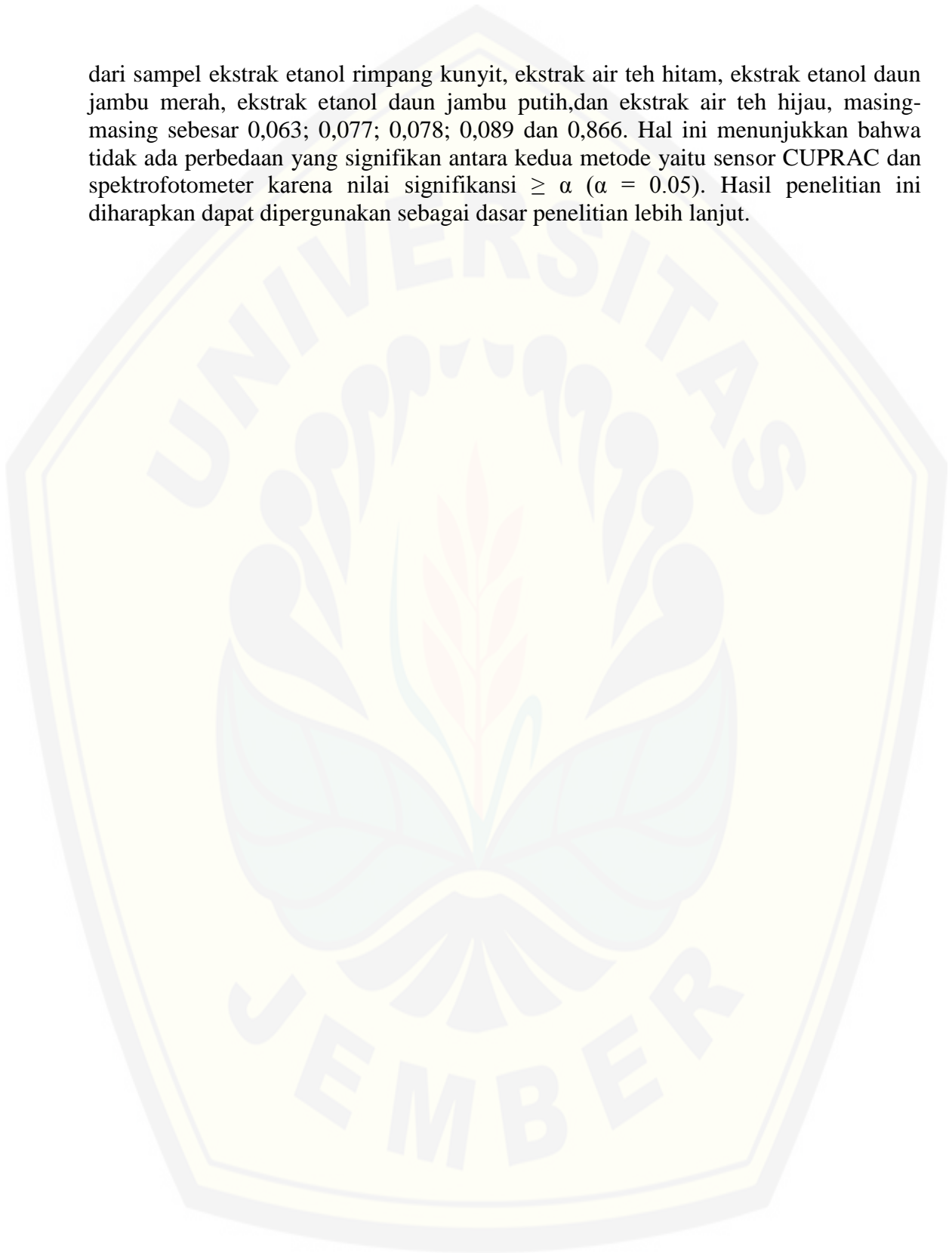
Dalam penelitian ini, reagen CUPRAC dalam kertas digunakan sebagai sensor untuk mendeteksi aktivitas antioksidan dalam sampel sediaan herbal. Fabrikasi sensor CUPRAC dilakukan dengan mengimobilisasi reagen TNK pada kertas. Adapun volume reagen TNK yang digunakan sebanyak 3 $\mu$ l. Optimasi reagen TNK bertujuan untuk mengetahui jumlah volume dan konsentrasi optimum reagen yang mampu membentuk sensor CUPRAC. Kondisi optimum yang digunakan dalam mendeteksi aktivitas antioksidan adalah konsentrasi CuCl<sub>2</sub>, Nc, dan NH<sub>4</sub>Ac berturut-turut adalah 1 M; 0,0075 M; dan 10 M.

Karakteristik sensor CUPRAC untuk menganalisis aktivitas antioksidan dalam penelitian ini meliputi waktu respon sensor 18-22 menit, daerah kerja sensor berada pada rentang 2-10 mM dengan nilai koefisien korelasi (r) adalah 0,998 dan nilai Vx0 2,688%. Nilai batas deteksi (LOD) sebesar 1,393 mM dan batas kuantitasi (LOQ) sensor antioksidan sebesar 3,091 mM. Presisi sensor terhadap sampel ekstrak etanol kunyit 2% yang dilakukan dengan tiga hari berbeda yaitu 0,646%; 1,671%; dan 1,932% memenuhi persyaratan parameter presisi, dimana nilai RSD-nya <2,7%. Sensor juga memenuhi parameter antioksidan dengan nilai %recovery didapatkan 99,514%. Deteksi aktivitas antioksidan tidak terganggu dengan adanya sukrosa dan amilum sampai dengan perbandingan 1:1 (b/b). Serta, sensor antioksidan stabil dalam penyimpanan pada suhu 25<sup>0</sup>C selama 90 menit dan pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 5 hari.

Hasil analisis aktivitas antioksidan yang dilakukan pengujian dengan sensor CUPRAC dan spektrofotometer dilakukan uji t berpasangan. Hasil nilai signifikansi



dari sampel ekstrak etanol rimpang kunyit, ekstrak air teh hitam, ekstrak etanol daun jambu merah, ekstrak etanol daun jambu putih, dan ekstrak air teh hijau, masing-masing sebesar 0,063; 0,077; 0,078; 0,089 dan 0,866. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara kedua metode yaitu sensor CUPRAC dan spektrofotometer karena nilai signifikansi  $\geq \alpha$  ( $\alpha = 0.05$ ). Hasil penelitian ini diharapkan dapat dipergunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut.



## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengembangan Sensor Berbasis Kertas (*Paper Microzone Plates*) Untuk Penentuan Antioksidan Menggunakan Metode CUPRAC Pada Sediaan Herbal”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan beberapa pihak, sehingga penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

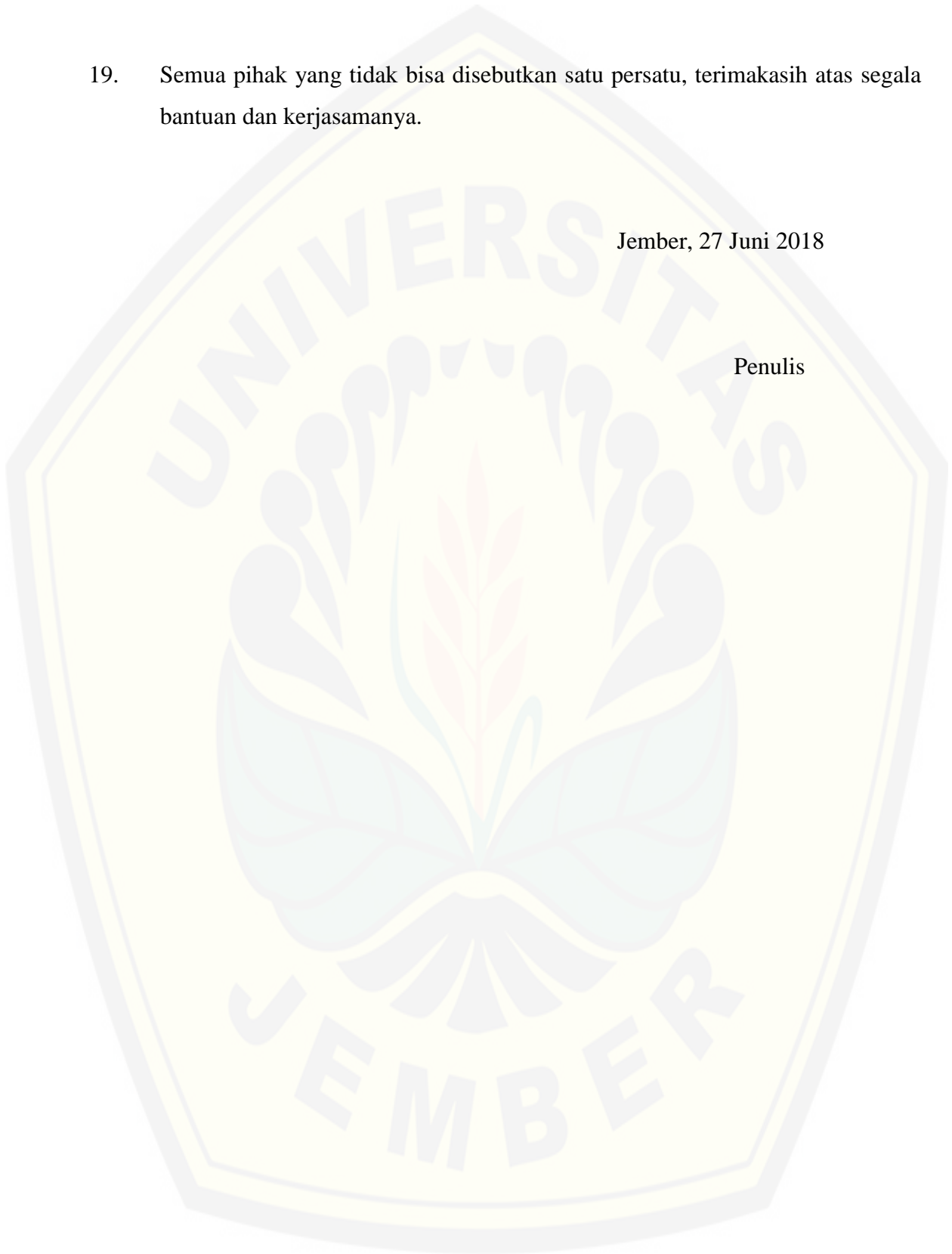
1. Allah SWT yang telah memberikan kami karunia kehidupan, kesehatan, dan telah memberikan kemudahan dalam penyusunan tulisan kami hingga selesai.
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember.
3. Ibu Ema Rachmawati, S.Farm, M.Sc, Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa.
4. Bapak Amrun Hidayat, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Proyek yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk berpartisipasi dalam proyek dan memberikan arahan serta bimbingan kepada penulis demi terselesaikannya penelitian ini.
5. Bapak Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D. dan Ibu Indah Yulia Ningsih, S.Farm, M.Farm, Apt. selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, perhatian dan membimbing penulis apabila terdapat permasalahan selama pengerjaan skripsi
6. Seluruh dosen dan karyawan Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan banyak ilmu pengetahuan, berbagai pengalaman, memberikan berbagai bantuan, dan memberikan motivasi kepada penulis selama masa perkuliahan hingga terselesaikannya skripsi ini.

7. Orang tua saya, ayahanda Arifin Kusno dan almarhumah ibunda Susi Alisah juga ibunda Siti Munatun atas kasih sayang, motivasi semangat, serta doa yang tiada henti dan pengorbanan besarnya selama ini.
8. Adik-adik saya Aab, Khoir dan Fiya untuk dorongan motivasi dan penyemangat.
9. “*Dol Yip and Friends*”, Yiptea dan Petty, teman seperjuangan tugas akhir sekaligus *smile stimulator* disaat penat ngelab dan revisi, yang banyak membantu dan memberikan semangat saat pengerjaan skripsi ini.
10. Sahabat terbaikku; Diah, Fitri, Iis, Tia, Irma, Hilda, Mia, Tya yang telah memberikan perhatian, motivasi, nasehat dan persahabatan yang tidak pernah membosankan.
11. “*Pengumpul pundi2 dollar*”, Gijibe, Roti, Pimu yang selalu menjadi penghibur dan penyemangat.
12. “*Tripel Posisyen*”, Ny.Ha dan Ny.Kim, teman kecil dan berhargaku atas segala candaan dan ide-ide gilanya.
13. Saudara saya “*MPA PRING KUNING*” dan “*MPA PK 2014*” yang telah memberikan kenangan dan perjuangan yang berharga
14. Keluarga besar “*Pharmagen FF UNEJ 2014*” yang telah berjuang bersama untuk mewujudkan cita-cita.
15. Teman-teman di laboratorium “*Kelurga Sensor 2014*” dan “*Putri Rapunzel*” yang banyak membantu selama penelitian berlangsung.
16. Teman-teman “*KOSAN 41A*” dan “*Keluarga KKN 94*” yang telah memberikan dukungan serta kesan-kesan selama ini.
17. Laboran Mbak Parka, Bu Wayan, Mbak Hani, Mbak Dinik dan Bu Widi yang telah memberikan banyak bantuan, bimbingan, serta waktunya selama pengerjaan skripsi ini.
18. WANNA ONE atas musik penyemangat dan *moodbooster* terampuh.

19. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terimakasih atas segala bantuan dan kerjasamanya.

Jember, 27 Juni 2018

Penulis



**DAFTAR ISI**

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
HALAMAN MOTTO .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN .....	v
HALAMAN PEMBIMBING .....	vi
HALAMAN PENGESAHAN .....	vii
RINGKASAN .....	viii
PRAKATA .....	x
DAFTAR ISI .....	xii
DAFTAR TABEL .....	xvii
DAFTAR GAMBAR .....	xviii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xix
BAB 1. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1 Tinjauan tentang Radikal Bebas .....	5
2.2 Tinjauan tentang Antioksidan .....	7
2.3 Tinjauan tentang Senyawa Antioksidan .....	9

2.3.1 Flavonoid.....	9
2.3.2 Tanin.....	9
2.3.3 Antosianin .....	10
2.4 Tinjauan tentang Sampel .....	12
2.4.1 Daun Jambu Biji ( <i>Psidium guajava</i> L.).....	12
2.4.2 Rimpang Kunyit ( <i>Curcuma longa</i> L.) .....	13
2.4.3 Daun Teh Hitam ( <i>Camellia sinensis</i> L.).....	14
2.5 Tinjauan tentang Metode CUPRAC .....	15
2.6 Tinjauan tentang Sensor Kimia.....	17
2.7 Tinjauan tentang Teknik Imobilisasi .....	18
2.7.1 Adsorpsi.....	18
2.7.2 Enkapsulasi.....	19
2.7.3 Pemerangkapan ( <i>Entrapment</i> ).....	19
2.7.4 Ikatan silang ( <i>Cross-linking</i> ).....	20
2.7.5 Ikatan Kovalen .....	21
2.8 Tinjauan tentang Karakteristik Sensor Kimia.....	21
2.8.1 Linieritas.....	21
2.8.2 Batas Kuantitasi dan Batas Deteksi .....	22
2.8.3 Presisi .....	23
2.8.4 Akurasi .....	23
2.8.5 Interferensi.....	24
2.8.6 Waktu Respon dan Waktu Pakai .....	24
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>32</b>
3.1 Jenis Penelitian .....	32
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	32
3.3 Definisi Operasional .....	32
3.4 Diagram Alur Penelitian .....	33
3.5 Alat dan Bahan.....	33

3.5.1	Alat .....	33
3.5.2	Bahan .....	33
3.6	Prosedur Penelitian .....	34
3.6.1	Preparasi Larutan Induk Rutin .....	34
3.6.2	Preparasi Larutan Standar Rutin.....	34
3.6.3	Preparasi Sampel .....	34
3.6.4	Pembuatan Kurva Baku Rutin .....	35
3.6.5	Pembuatan Reagen TNK .....	35
3.6.6	Pembuatan Sensor Berbasis Kertas ( <i>Paper Microzone Plates</i> ).....	35
3.6.7	Prosedur Pengukuran Intensitas Warna.....	36
3.6.8	Optimasi Reagen TNK .....	36
3.6.8.1	Optimasi Volume Kertas Saring .....	36
3.6.8.2	Optimasi Konsentrasi Reagen TNK .....	37
3.6.9	Karakterisasi Sensor Kimia .....	37
3.6.9.1	Waktu Respon.....	37
3.6.9.2	Linieritas .....	37
3.6.9.3	Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi .....	38
3.6.9.4	Presisi.....	38
3.6.9.5	Akurasi.....	38
3.6.9.6	Interferensi .....	38
3.6.9.7	Waktu Pakai .....	39
3.7	Aplikasi Sensor pada Sampel Ekstrak Daun Jambu Biji ( <i>Psidium guajava</i> L.), Rimpang Kunyit ( <i>Curcuma longa</i> L.), dan Daun Teh Hitam ( <i>Camellia sinensis</i> L.) Dibandingkan dengan Spektrofotometer .....	39
<b>BAB 4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>41</b>
4.1	Sensor Kimia CUPRAC.....	41
4.1.1	Fabrikasi Sensor Antioksidan.....	41
4.1.2	Optimasi Sensor Kimia .....	42

4.1.2.1	Optimasi Volume Reagen pada Kertas .....	42
4.1.2.2	Optimasi Konsentrasi Reagen Pereaksi CUPRAC .....	42
4.2	Karakteristik Sensor Antioksidan .....	44
4.2.1	Waktu Respon .....	44
4.2.2	Linieritas .....	45
4.2.3	Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ) .....	46
4.2.4	Presisi .....	47
4.2.5	Akurasi .....	48
4.2.6	Interferensi .....	49
4.2.7	Waktu Pakai .....	50
4.3	Aplikasi Sensor Antioksidan pada Sampel Dibandingkan Metode Spektrofotometer .....	51
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>		<b>54</b>
5.1	Kesimpulan .....	54
5.2	Saran .....	55
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>56</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>		<b>61</b>



**DAFTAR TABEL**

	<b>Halaman</b>
Tabel 2.1 Contoh Reaktif Spesies (Halliwell dan Gutteridge, 2015).....	5
Tabel 2.2 Kriteria penerimaan studi akurasi dan presisi pada konsentrasi analit yang berbeda (Yuwono dan Indrayanto, 2005).....	23
Tabel 4.1 Optimasi volume reagen TNK pada kertas .....	42
Tabel 4.2 Optimasi Konsentrasi Reagen TNK pada Sensor CUPRAC .....	43
Tabel 4.3 Hasil pengukuran linieritas .....	45
Tabel 4.4 Hasil pengukuran presisi .....	48
Tabel 4.5 Hasil pengukuran akurasi.....	49
Tabel 4.6 Hasil pengukuran % interferensi.....	50
Tabel 4.7 Aplikasi Sampel Nyata pada Sensor CUPRAC dibandingkan Spektrofotometer ,.....	52

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Reaksi CUPRAC dan kromofor: kelat Cu(I)-Nc.....	15
Gambar 2.2 Skema sensor kimia .....	17
Gambar 2.3 Teknik adsorpsi .....	19
Gambar 2.4 Teknik <i>entrapment</i> .....	20
Gambar 2.5 Teknik <i>cross-linking</i> .....	21
Gambar 2.6 Waktu pakai sensor yang dapat ditentukan mulai (a) hingga batas (b). Waktu pakai mulai turun pada (c) hingga (d). .....	25
Gambar 3.1 Diagram alur penelitian .....	33
Gambar 3.2 Desain sensor berbasis kertas .....	36
Gambar 3.3 Area kerja pada sensor kertas .....	36
Gambar 4.1 Sensor antioksidan pada kertas .....	41
Gambar 4.2 Kurva waktu respon sensor CUPRAC .....	44
Gambar 4.3 Hasil Pengujian Parameter Linieritas .....	46
Gambar 4.4 Kurva stabilitas sensor CUPRAC pada suhu kamar (25°C) .....	50
Gambar 4.5 Kurva stabilitas sensor CUPRAC pada suhu lemari es (4°C) .....	50

**DAFTAR LAMPIRAN**

A. Optimasi Konsentrasi Reagen .....	61
B. Waktu Respon .....	64
C. Linieritas .....	65
D. Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi .....	66
E. Presisi .....	68
F. Akurasi .....	68
G. Interferensi .....	70
H. Stabilitas .....	71
I. Aplikasi Sensor Antioksidan .....	73

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Keberadaan radikal bebas dalam tubuh berkontribusi terhadap terjadinya penyakit degeneratif, seperti penyakit kardiovaskuler, diabetes, radang sendi, dan lain-lain. Radikal bebas merupakan molekul dengan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada kulit terluarnya (Pham-huy dkk., 2008). Adanya elektron yang tidak berpasangan dapat menyumbangkan atau menerima elektron dari molekul lain, sehingga bertindak sebagai oksidan atau reduktan. Oleh karena itu, diperlukan senyawa untuk melindungi sel dan sistem organ tubuh terhadap spesies oksigen reaktif, yaitu antioksidan (Mohammed dkk., 2015).

Antioksidan adalah substansi yang mampu menangkal efek oksidasi yang dapat merusak jaringan tubuh (Scheibmeir dkk., 2005). Antioksidan dapat bertindak sebagai hidrogen donor, elektron donor, inhibitor enzim, dan penangkap radikal bebas (Frei dkk., 1988). Molekul antioksidan cukup stabil untuk menyumbangkan elektron pada radikal bebas, sehingga mengurangi kemampuannya untuk melakukan perusakan pada sel (Lobo dkk., 2010). Antioksidan dapat berasal dari alami maupun sintetik. Menurut Sayuti dan Yenrina (2015), peningkatan konsumsi antioksidan alami dalam buah, sayur dan bagian-bagian lain dari tumbuhan terbukti dapat menghindari penyakit degeneratif. Saat ini penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena dari hasil penelitian yang telah dilakukan, antioksidan sintetik seperti BHT (*Butylated Hydroxy Toluena*) dapat bersifat racun dan karsinogenik (Matheos dkk., 2014). Sebagai upaya dalam pencarian senyawa antioksidan alami, maka perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada tanaman obat.

Penentuan aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai instrumen. Berbagai metode diaplikasikan untuk mendeteksi senyawa antioksidan, misalnya dengan spektrofotometer, kromatografi lapis tipis (KLT)

ataupun kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) (Chen, 2007; Cai dkk., 2012; Laily dkk., 2015). Uji antioksidan diklasifikasikan berdasarkan tipe antioksidan yang diukur (lipofilik dan hidrofilik), karakteristik media uji (*in situ dan ex situ*), jenis reagen uji (radikal dan non-radikal), mekanisme aksi (transfer atom hidrogen (TAH) dan transfer elektron (TE)) (Ozyurek dkk., 2011). Namun, beberapa metode tersebut memiliki beberapa kekurangan seperti instrumen yang dibutuhkan harus spesifik, volume sampel yang relatif besar, lamanya waktu pengerjaan, dan diperlukan staf dengan kualifikasi tertentu (Gomes dan Rebelo, 2003; Hidayat dkk., 2017)

Metode yang saat ini dikembangkan adalah metode CUPRAC (*cupric reducing antioxidant capacity*) dimana deteksi kandungan antioksidan dapat dilihat secara visual melalui perubahan warna dari warna biru menjadi kuning jika mengalami kontak dengan antioksidan (Krylova dkk., 2016). Reagen pada metode CUPRAC terdiri dari tembaga (II) klorida, neokuproin dan amonium asetat. Metode ini dipilih karena pereaksi tembaga (II)-neokuproin (TNK) merupakan pereaksi yang selektif terhadap senyawa antioksidan (Ozyurek dkk., 2011). Reagen TNK lebih stabil dan mudah diperoleh daripada reagen radikal kromogenik lainnya seperti ABTS dan DPPH (Ozyurek dkk., 2011). Meski demikian, metode pengujian CUPRAC menggunakan spektrofotometer memiliki beberapa kekurangan seperti instrumen yang tidak praktis dan volume sampel yang relatif besar. Oleh karena itu, dibutuhkan alternatif metode pengujian aktivitas antioksidan yang cepat, tepat, murah dan mudah. Salah satu alternatif yang dapat dipilih adalah penggunaan sensor yang murah, mudah dibawa (*portable*) dan sekali pakai (*disposable*).

Sensor kimia adalah salah satu jenis sensor yang merupakan suatu alat analisis berisi reagen kimia yang dapat bereaksi dengan analit tertentu, dalam larutan atau gas, sehingga menghasilkan perubahan fisika-kimiawi yang dapat dirubah menjadi sinyal listrik yang proporsional dengan konsentrasi analit tersebut (Kuswandi, 2010). Transduser sensor kimia terdiri dari elektrokimia, optik, piezoelektrik dan termal (Eggins, 2002). Sensor kimia optik memiliki beberapa kelebihan seperti stabil, tidak

memerlukan daya listrik, mudah dilakukan pergantian reagen serta bermanfaat dari segi ekonomis maupun lingkungan (Eggins, 2002; Szulczynski dan Gebicki, 2017)

Sensor kolorimetri untuk mengukur kapasitas antioksidan menggunakan reagen TNK pernah dilakukan sebelumnya. Pada penelitian Krylova dkk., (2016), penggunaan TNK yang diimobilisasi pada matriks polimetakrilat (*polymethacrylate matrix*) memiliki kekurangan karena pengukurannya masih memerlukan alat tambahan lain, yaitu spektrofometer. Sensor kimia yang dikembangkan pada penelitian ini adalah sensor optik baru berbasis TNK dimana reagen diimobilisasi dalam kertas saring. Sensor kertas dibuat dengan mengimobilisasi reagen TNK pada kertas saring dengan metode adsorpsi. Menurut Ozyurek dkk., (2011), prinsip pengukuran aktivitas antioksidan sampel dari metode CUPRAC adalah dengan mengukur perubahan warna yang ditimbulkan oleh interaksi senyawa antioksidan dengan reagen. Tingkat perubahan warna berkorelasi dengan konsentrasi antioksidan dalam sampel (Bener dkk., 2010). Pada penelitian ini digunakan kertas saring karena selain murah, fabrikasinya relatif sederhana dan mudah. Selain itu, perubahan warna dapat dengan mudah dideteksi dengan mata telanjang. Pengembangan sensor antioksidan berbasis TNK yang diimobilisasi pada kertas saring dapat menjadi salah satu metode alternatif deteksi kandungan antioksidan pada sampel ekstrak tanaman yang diharapkan lebih efektif dan efisien dalam aplikasinya dibandingkan dengan menggunakan instrumen lain yang lebih rumit. Pada penelitian ini digunakan tiga sampel ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan yaitu ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.), ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) , dan ekstrak daun teh (*Camellia sinensis*.L.).

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan sebelumnya, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Bagaimanakah kondisi optimal fabrikasi sensor antioksidan (konsentrasi dan volume reagen) dalam penentuan antioksidan terhadap perubahan warna sensor?
- b. Bagaimanakah karakteristik analisis (waktu respon, linieritas, batas deteksi, batas kuantitasi, presisi, akurasi, interferensi dan waktu pakai) sensor untuk deteksi antioksidan pada ekstrak rimpang kunyit, daun jambu biji, dan daun teh?
- c. Bagaimanakah aplikasi sensor berbasis kertas pada penentuan antioksidan ekstrak rimpang kunyit, daun jambu biji dan daun teh dibandingkan dengan metode spektrofotometer?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Menentukan kondisi optimal fabrikasi sensor antioksidan (konsentrasi dan volume reagen) dalam penentuan antioksidan terhadap perubahan warna pada sensor
- b. Menentukan karakteristik analisis (waktu respons, linieritas, batas deteksi, batas deteksi, presisi, akurasi dan interferensi) sensor untuk deteksi antioksidan pada ekstrak rimpang kunyit, daun jambu biji dan daun teh
- c. Membandingkan hasil penentuan sensor berbasis kertas untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak rimpang kunyit, daun jambu biji, dan teh dengan spektrofotometer

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat penelitian yang ingin dicapai adalah sebagai berikut :

- a. Pengembangan teknologi sensor berbasis kertas sebagai sensor antioksidan untuk mengukur aktivitas antioksidan yang dapat digunakan secara efektif dan efisien
- b. Memberikan informasi kandungan antioksidan pada sampel ekstrak yang menggunakan sensor antioksidan berbasis kertas secara cepat dan mudah
- c. Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan tentang Radikal Bebas

Radikal bebas adalah spesies yang mampu berdiri sendiri, mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Elektron yang tidak berpasangan akan menempati orbital atom atau molekul dengan sendirinya. Adanya satu atau lebih elektron tidak berpasangan biasanya menyebabkan radikal bebas sedikit tertarik medan magnet (paramagnetik), dan membuat elektron tersebut sangat reaktif (Halliwell dan Gutteridge, 2015).

Tabel 2.1 Contoh Reaktif Spesies (Halliwell dan Gutteridge, 2015).

Radikal Bebas	Non radikal
<i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS)	<i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS)
Superoksida, $O_2^-$	Hidrogen peroksida $H_2O_2$
Hidroksil, $OH^-$	Peroksinitrit $ONOO^-$
Hidroperoksil, $HO_2^-$	Peroksinitrat $O_2NOO^-$
Karbonat, $CO_3^-$	Organik peroksida ROOH
Karbon dioksida, $CO_2^-$	
<i>Reactive Nitrogen Species</i> (RNS)	<i>Reactive Nitrogen Species</i> (RNS)
Oksida Nitrit $NO^-$	Asam peroksinitrit $O_2NOOHC$
Nitrogen dioksida $NO_2^-$	Nitril Klorida $NO_2Cl$
Radikal Nitrat $NO_3^-$	Dinitrogen Trioksida $N_2O_3$

Radikal dapat terbentuk dengan berbagai cara antara lain :

- Radikal bebas dapat terbentuk dengan kehilangan satu elektron dari nonradikal, meninggalkan elektron yang tidak berpasangan dan sebuah muatan positif seperti reaksi berikut :  $Xe^- \rightarrow X \cdot +$  (kation radikal)
- Radikal bebas dapat terbentuk dengan mendapatkan satu elektron seperti reaksi berikut :  $Y + e^- \rightarrow Y \cdot -$  (anion radikal)
- Radikal juga terbentuk jika ikatan kovalen lepas dan meninggalkan satu elektron dari pasangan ikatan masing-masing atom, dimana proses ini dikenal sebagai fisi homolitik. Energi yang dibutuhkan untuk melepaskan ikatan

kovalen dapat berasal dari panas, sinar ultraviolet, atau radiasi pengion (Halliwell dan Gutteridge, 2015).

Pada konsentrasi rendah atau sedang, ROS dan RNS diperlukan untuk proses pematangan struktur sel dan bertindak sebagai sistem pertahanan tubuh. Fagosit (neutrofil, makrofag, monosit) melepaskan radikal bebas untuk menghancurkan mikroba patogen sebagai bagian dari mekanisme pertahanan tubuh melawan penyakit. Efek menguntungkan lainnya dari ROS dan RNS melibatkan fungsi sejumlah sistem sinyal seluler. Sebagai contoh, nitrit oksida (NO) adalah pembawa pesan antar sel memodulasi aliran darah, trombosis, dan aktivitas saraf. NO juga penting untuk pertahanan *host* nonspesifik, dan untuk membunuh patogen dan tumor intraselular. Singkatnya, ROS / RNS pada tingkat rendah atau sedang sangat penting untuk kesehatan manusia (Pham-huy dkk., 2008).

Oksigen radikal yang berperan penting adalah radikal hidroksil, radikal anion superoksida, hidrogen peroksida, singlet oksigen, hipoklorit, radikal nitrat oksida, dan radikal peroksinitrit. Spesies ini sangat reaktif, berada pada nukleus dan di selaput sel yang merusak molekul penting seperti protein, karbohidrat, dan lipid. Radikal bebas menyerang makromolekul penting yang menyebabkan kerusakan sel dan gangguan homeostatik. Sasaran radikal bebas mencakup segala jenis molekul dalam tubuh diantaranya, lipid, asam nukleat, dan protein adalah target utama (Mohammed dkk., 2015).

Berikut beberapa penyakit terkait tingginya kandungan radikal bebas didalam tubuh :

a. Penyakit kardiovaskular

Penyakit kardiovaskular (CVD) adalah etiologi yang terkait dengan berbagai faktor risiko seperti hiperkolesterolemia, hipertensi, merokok, diabetes, stres dan aktivitas fisik. Studi *in vivo* dan *ex vivo* lebih lanjut dimana terbukti peran stres oksidatif pada sejumlah CVD seperti aterosklerosis, iskemia, hipertensi,

kardiomiopati, hipertrofi jantung dan gagal jantung kongestif (Pham-huy dkk., 2008).

b. Penyakit neurologis

Stres oksidatif telah diteliti pada berbagai penyakit neurologis termasuk penyakit Alzheimer, penyakit Parkinson, sklerosis, *amyotrophic lateral sclerosis* (ALS), hilang ingatan maupun depresi. Dalam penyakit seperti Alzheimer, banyak penelitian eksperimental dan klinis telah menunjukkan bahwa kerusakan oksidatif memainkan peran kunci dalam hilangnya neuron dan perkembangan demensia. Produksi dari  $\beta$ -amyloid, peptida toksik sering ditemukan hadir dalam Alzheimer pada otak pasien, disebabkan oleh stres oksidatif dan berperan penting peran dalam proses neurodegeneratif (Pham-huy dkk., 2008).

## 2.2 Tinjauan tentang Antioksidan

Antioksidan merupakan molekul yang cukup stabil untuk menyumbangkan elektron ke radikal bebas dan membuat radikal bebas menjadi netral, sehingga dapat mengurangi kerusakan. Antioksidan ini menunda atau menghambat kerusakan sel terutama melalui kemampuan menangkap radikal bebas (*radical scavenging*). Antioksidan dengan berat molekul (BM) rendah dapat berinteraksi dengan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai sebelum molekul penting menjadi rusak (Lobo dkk., 2010).

Antioksidan dapat diklasifikasikan menjadi antioksidan enzimatik dan antioksidan nonenzimatik. Antioksidan enzimatik utama yang berperan langsung dalam netralisasi ROS dan RNS adalah superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), glutathion peroksidase (GPx) dan glutathion reduktase (GRx). SOD mengkatalisis reduksi radikal anion superoksida ( $O_2^-$ ) menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) diubah menjadi air dan oksigen ( $O_2$ ) dengan katalase (CAT) atau glutathione peroxidase (GPx) (Pham-huy dkk., 2008).

Antioksidan nonenzimatik terbagi menjadi antioksidan metabolik dan antioksidan nutrien. Antioksidan metabolik termasuk dalam antioksidan endogen yang diproduksi oleh metabolisme tubuh, seperti asam lipoid, glutathion, ubiquinol, *L*-arginin, koenzim Q10, melatonin, asam urat, bilirubin, protein pengkelat logam, transferin, dll (Lobo dkk., 2010; Pham-huy dkk., 2008). Antioksidan lainnya ditemukan dalam makanan, seperti beberapa mikronutrien yang dapat berperan sebagai *radical scavenger* yaitu vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol), vitamin C (asam askorbat), dan  $\beta$ -karoten. Tubuh tidak bisa memproduksi nutrisi mikronutrien ini, sehingga harus dipasok oleh makanan (Lobo dkk., 2010).

Antioksidan bertindak sebagai *radical scavenger*, pendonor hidrogen, pendonor elektron, dekomposer peroksida, inhibitor enzim, sinergis, dan agen pengelut logam (Lobo dkk., 2010). Antioksidan memiliki tiga mekanisme aksi yang berbeda antara lain pengalihan radikal dengan pembentukan radikal antioksidan yang reaktif, menjebak radikal bebas dengan pembentukan molekul stabil atau penangkapan radikal bebas inert, dan molekul yang meniru aktivitas enzim antioksidan. Kategori pertama berlaku terutama untuk antioksidan alami dan beberapa antioksidan sintesis, sedangkan kategori kedua dan ketiga untuk kepentingan farmakologis dan menggambarkan mekanisme aksi antioksidan beberapa senyawa sintesis (Frei dkk., 1988).

Antioksidan banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang. Pada industri makanan, antioksidan digunakan untuk menghambat peroksidasi lipid dalam makanan, karena antioksidan dianggap sebagai penghambat lemak peroksidasi yang baik. Museum kurator menggunakan antioksidan untuk mengawetkan barang pameran. Industri menggunakan antioksidan untuk kontrol polimerisasi dalam pembuatan karet, plastik, dan cat, untuk melindungi minyak dari kerusakan, dan untuk perlindungan terhadap cahaya ultraviolet (Halliwell dan Gutteridge, 2015).

## 2.3 Tinjauan tentang Senyawa Antioksidan

### 2.3.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan zat yang umumnya terdapat dalam tumbuhan dan mempunyai beragam khasiat, antara lain sebagai antioksidan (Indriani, 2006). Flavonoid adalah antioksidan yang bisa mencegah atau menunda oksidasi substrat bahkan ketika terdapat dalam konsentrasi rendah. Antioksidan nonenzimatik ini (fenolat dan flavonoid) bereaksi dengan prooksidan (ROS dan RNS) dan menyebabkan inaktivasi. Dalam reaksi redoks, antioksidan berperan sebagai reduktan dan pertahanan lini pertama yang menekan pembentukan bebas radikal (Jantan dkk., 2012).

Aktivitas antioksidan flavonoid bergantung pada gugus yang terkandung dalam flavonoid. Flavonoid memiliki 8 kelompok gugus yang berbeda antara lain flavonol (kuersetin, mirisetin, kaempferol dan rutin), flavanon (taksifolin), flavon (luteolin dan apigenin), isoflavon (daidzein dan genistein), katekin, antosianidin, dihidroflavonol dan kalkon (Symonowicz dan Kolanek, 2012). Flavonoid dapat mencegah kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dengan mekanisme kerja antara lain penangkapan langsung (*direct scavenging*) ROS, aktivasi enzim antioksidan, aktivitas penguraian logam, reduksi radikal  $\alpha$ -tokoferil, inhibisi oksidasi, dan peningkatan sifat antioksidan antioksidan molekul rendah (Procházková dkk., 2011).

### 2.3.2 Tanin

Menurut Riedl dkk. (2002), tanin merupakan senyawa polifenol dengan berat molekul tinggi. Ada dua kelas utama pada tanin, yaitu tanin terkondensasi (*condensed tannins*) dan tanin terhidrolisis (*hydrolysable tanins*). Tanin tercatat memiliki kemampuan untuk mengikat dan mengendapkan protein dan juga untuk mengkelat logam transisi. Difenolina tersubstitusi pada tanin bisa menyumbang hingga empat

elektron untuk mengurangi radikal oksidasi. Radikal fenolik relatif stabil karena efek delokalisasi cincin aromatik (Riedl dkk., 2002).

Tanin merupakan metabolit sekunder yang dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan maupun antimikroba (Tanvir dkk., 2017). Penggunaan tanin sebagai antioksidan dimanfaatkan dalam industri jus buah, bir, dan anggur (Khanbabaee dan Ree, 2001). Potensi senyawa ini terhadap kemampuan antioksidan fisiologis cukup besar dan memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar daripada yang dihasilkan oleh asam askorbat (Hagerman dkk., 1999).

### 2.3.3 Antosianin

Antosianin adalah kelompok pigmen yang menyebabkan warna kemerah-merahan, letaknya di dalam cairan sel yang bersifat larut dalam air (Husna dkk., 2013). Pada buah atau sayuran, pigmen antosianin umumnya terletak pada sel-sel dekat permukaan (Santoso dan Estiasih, 2014). Regulasi penggunaannya sebagai *food additive* diatur oleh *Food and Drugs Administration* di US dan Uni Eropa sebagai salah satu pewarna dalam golongan *Exempt from Certification Food Additive Color*. Dengan dimasukkannya antosianin, dalam golongan tersebut, maka penggunaan antosianin tidak mempunyai batas maksimum tertentu, selama masih dalam kondisi wajar. Efek samping konsumsi antosianin belum ditemukan karena belum adanya laporan toksisitas atau intoleransi antosianin (Husna dkk., 2013).

Antosianin adalah salah satu senyawa yang reaktif. Sifat reaktif ini disebabkan oleh inti kation flavium dari pigmen antosianin yang kekurangan elektron. Reaksi-reaksi yang terjadi pada antosianin umumnya menyebabkan terjadinya kerusakan warna. Kerusakan warna pigmen antosianin disebabkan oleh berubahnya kation flavium yang berwarna merah menjadi basa karbinol yang tidak berwarna (Satyatama, 2008).

Ekstraksi pigmen antosianin umumnya menggunakan larutan pengestrak HCl dalam etanol. HCl dalam etanol akan mendenaturasi membran sel tanaman kemudian melarutkan pigmen antosianin keluar dari sel. Pigmen antosianin dapat larut dalam etanol karena bersifat polar. Namun, proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut akuades lebih banyak keuntungannya dikarenakan senyawa yang akan diekstrak merupakan senyawa polar, sedangkan akuades dan antosianin merupakan pelarut dan bahan terlarut yang keduanya memiliki sifat polar (Santoso dan Estiasih, 2014)

Antosianin merupakan senyawa flavonoid yang bisa melindungi sel dari sinar ultraviolet. Antosianin memiliki fungsi fisiologis yaitu sebagai antioksidan dan perlindungan terhadap sel-sel hati. Antosianin bermanfaat bagi kesehatan tubuh karena dapat berfungsi sebagai antioksidan, antihipertensi, dan pencegah gangguan fungsi hati, jantung koroner, kanker, dan penyakit-penyakit degeneratif, seperti aterosklerosis. 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 Sampel

### 2.4.1 Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan adalah tanaman jambu. Berbagai jenis jambu biji diantaranya jambu biji klutuk, jambu biji putih dan jambu biji merah. Bagian daun tanaman jambu biji memiliki manfaat sebagai obat tradisional. Kandungan kimia pada daun jambu biji berperan sebagai penghambat penuaan dini. Analisis fitokimia ekstrak daun jambu biji mengandung senyawa saponin, tanin, steroid, flavonoid, alkaloid dan triterpenoid (Indriani, 2006; Maulana dkk., 2016)

#### a. Klasifikasi Tanaman Jambu Biji

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Trakeopita
Subdivisi	: Spermatopita
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Myrtales
Suku	: Myrtaceae
Marga	: <i>Psidium</i>
Jenis	: <i>Psidium guajava</i> L. (ITIS, 2017a)

#### b. Kandungan Daun Jambu Biji Terkait Antioksidan

Jambu biji juga memiliki sifat antioksidan yang dikaitkan dengan adanya kandungan polifenol yang ditemukan di daun. Daun jambu biji kaya akan flavonoid, yaitu kaemferol, luteolin, apigenin, dengan kandungan utama yaitu kuersetin (Kumari dkk., 2013).

#### c. Penelitian Terkait Antioksidan

Pengujian yang membuktikan daun jambu biji memiliki aktivitas antioksidan antara lain ekstrak etanol-air dengan pengujian kromatografi cair kinerja tinggi, ekstrak etanol-air dengan metode *Folin Ciocalteau* yang diuji menggunakan spektrofotometer dan ekstrak etanol 70% daun jambu biji yang



diuji dalam emulsi dengan spektrofotometer (He dan Venant, 2004; Indriani, 2006; Díaz-de-cerio dkk., 2016)

#### 2.4.2 Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L.)

Di India, Cina dan negara-negara Asia Tenggara seperti Indonesia, zat warna kunyit dimanfaatkan sebagai bahan tambahan makanan maupun obat-obatan (Saefudin dkk., 2014). Tanaman kunyit mempunyai efek antibakteri, antiradang dan antioksidan (Abdullatif, 2016). Senyawa polifenol yang terdapat pada rimpang kunyit bertanggung jawab terhadap aktivitas biologis sebagai antioksidan (Saefudin dkk., 2015; Abdullaatif, 2016)

##### a. Klasifikasi Tanaman Kunyit

Kerajaan : Plantae  
Divisi : Trakeopita  
Subdivisi : Spermatopita  
Kelas : Magnoliopsida  
Bangsa : Zingiberales  
Suku : Zingiberaceae  
Marga : *Curcuma*  
Jenis : *Curcuma longa* L. (ITIS, 2017b)

##### b. Kandungan Kunyit Terkait Antioksidan

Kunyit mengandung kurkumin, alkaloid dan minyak atsiri. Rimpang kering kunyit mengandung 5,8% minyak atsiri, sedangkan rimpang segar mengandung 0,24% zingiberin (Nahak dan Sahu, 2011).

##### c. Penelitian Terkait

Pengujian yang membuktikan rimpang kunyit memiliki aktivitas antioksidan antara lain pengujian ekstrak etanol rimpang kunyit dengan HPLC, pengujian ekstrak etanol 96% rimpang kunyit dengan GC-MS serta ekstrak air dan etanol

dari kunyit diuji dengan alat spektrofotometer (Nahak dan Sahu, 2011; Stanojević dkk., 2015; Tanvir dkk., 2017).

### 2.4.3 Daun Teh (*Camellia sinensis* L.)

Teh merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai tanaman obat. Manfaat teh bagi kesehatan terletak pada komponen bioaktifnya, yaitu polifenol yang secara optimal terkandung dalam daun teh (Martono, 2016). Teh mengandung senyawa fenol dan flavonoid yang menghasilkan banyak manfaat, terutama sebagai antioksidan (Sudaryati, 2015).

#### a. Klasifikasi Tanaman Teh

Kerajaan : Plantae  
Divisi : Trakeopita  
Subdivisi : Spermatopitina  
Kelas : Magnoliopsida  
Bangsa : Ericales  
Suku : Theaceae  
Marga : *Camellia*  
Jenis : *Camellia sinensis* L. (ITIS, 2017c)

#### b. Kandungan Teh Terkait Antioksidan

Teh mengandung katekin, asam galat, epikatekin, epikatekin galat (Cleverdon dkk., 2018).

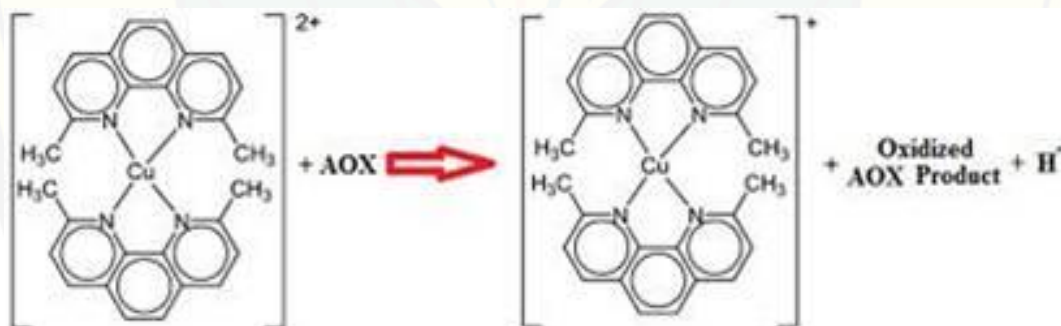
#### c. Penelitian Terkait

Pengujian yang membuktikan daun teh memiliki aktivitas antioksidan antara lain pengujian ekstrak air daun teh dengan spektrofotometer dan ekstrak air daun teh dengan HPLC (Apak dkk., 2006; Haque dan Cañete, 2018).

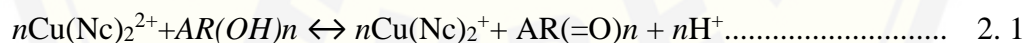
### 2.5 Tinjauan tentang Metode CUPRAC

Metode CUPRAC merupakan pengujian kapasitas antioksidan sederhana dan serbaguna yang berguna untuk berbagai pengujian polifenol, termasuk asam fenolik, asam hidroksikinamat, flavonoid, karotenoid, antosianin, tiol, antioksidan sintetis, vitamin C dan vitamin E. Metode ini dinamakan sebagai kapasitas antioksidan reduksi ion tembaga (*cupric ion reducing antioxidant capacity*) atau disingkat metode CUPRAC (Ozyurek dkk., 2011). CUPRAC merupakan metode pengujian antioksidan berbasis transfer elektron (TE). Pengujian berbasis TE mengukur kapasitas antioksidan oleh reduksi oksidan kromogenik (probe), yang berubah warna jika direduksi. Tingkat perubahan warna (kenaikan atau penurunan absorbansi pada panjang gelombang tertentu) berkorelasi dengan konsentrasi antioksidan dalam sampel (Ozyurek dkk., 2011).

Pereaksi pengoksidasi kromogenik yang digunakan untuk uji CUPRAC adalah tembaga(II)-neokuproin (TNK). TNK bertindak sebagai agen transfer elektron luar, dan kromofor CUPRAC terbentuk dari reduksi reagen TNK dengan antioksidan, yaitu tembaga (I)-neokuproin (Cu(I)-Nc) (Bener dkk., 2010). Reagen TNK bereaksi dengan antioksidan *n*-elektron reduktan (AO) seperti Gambar 2.1 dan Persamaan 2.1



Gambar 2.1 Reaksi CUPRAC dan kromofor: kelat Cu(I)-Nc



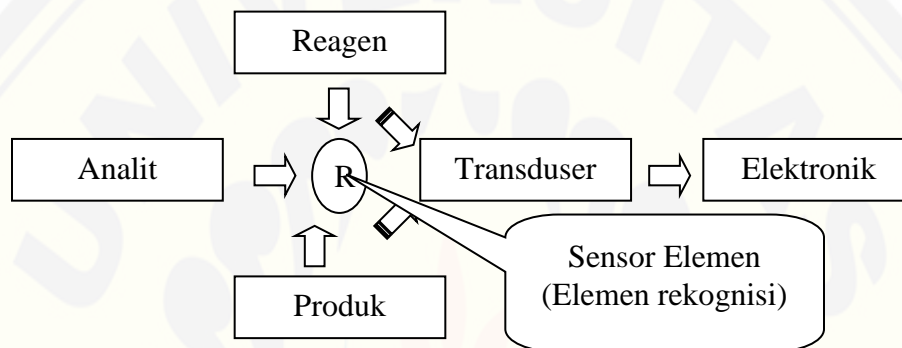
Dalam reaksi ini, gugus antioksidan polifenol (Ar-OH) dioksidasi menjadi kuinon yang sesuai (Ar=O), dan TNK direduksi menjadi kelat (Cu(I)-(Nc)<sub>2</sub>) berwarna kuning oranye. Meskipun konsentrasi ion Cu<sup>2+</sup> dalam stoikiometri berada dalam kelebihan,

neokuproin (Nc) dalam reagen CUPRAC akan mendorong reaksi redoks seimbang yang ditunjukkan oleh persamaan 2.1 ke kanan, dimana disebabkan adanya oksidan spesies  $\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+}$ . Hal ini karena standar potensi redoks dari  $\text{Cu}(\text{Nc})_2^{2+} / \text{Cu}(\text{Nc})_2^+$  adalah 0,6 V yang jauh lebih tinggi dari  $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$  (0,17 V), dan Cu(I)-neokuproin jauh lebih stabil dalam geometri tetrahedral dibandingkan dengan Cu (II)-neokuproin. Hasilnya, polifenol lebih cepat dan lebih efisien teroksidasi reagen TNK dibandingkan dengan  $\text{Cu}^{2+}$  dan jumlah produk berwarna (kelat Cu(I)-Nc) yang muncul pada akhir reaksi redoks setara dengan TNK. Proton yang dibebaskan disangga dalam media amonium asetat pada pH 7 (Ozyurek dkk., 2011).

Metode pengukuran antioksidan CUPRAC, didasarkan pada pengukuran absorbansi kromofor CUPRAC, yaitu kelat Cu(I)-Nc, yang terbentuk sebagai hasil reaksi redoks dengan pereaksi antioksidan CUPRAC (TNK) (Bener dkk., 2010). Kelat Cu(I)-Nc yang terbentuk akan berwarna oranye-kuning. Reagen ini efektif pada pH 7, dan absorbansi kelat Cu(I) terbentuk sebagai hasil reaksi redoks dengan polifenol, vitamin C dan E dimana absorbansi dicatat pada penyerapan cahaya maksimal pada panjang gelombang 450 nm (Bener dkk., 2010; Ozyurek dkk., 2011). Pada metode CUPRAC normal, reaksi oksidasi pada dasarnya terjadi sempurna pada suhu kamar dalam 3 menit (Ozyurek dkk., 2011). Pengujian dengan metode CUPRAC selesai dalam hitungan menit untuk asam askorbat, asam urat, asam galat, dan kuersetin, namun membutuhkan 30-60 menit untuk molekul yang lebih kompleks (Prior dkk., 2005).

## 2.6 Tinjauan tentang Sensor Kimia

Sensor kimia merupakan alat yang merespons analit tertentu secara selektif melalui reaksi kimia dan dapat digunakan untuk penentuan analit secara kualitatif atau kuantitatif. Sensor kimia berkaitan dengan pendeteksian dan pengukuran zat kimia atau rangkaian bahan kimia tertentu (Eggins, 2002).



Gambar 2.2 Skema sensor kimia

Secara singkat sensor kimia dapat ditulis secara singkat sebagai berikut:

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

Dari Gambar 2.2 terlihat bahwa sensor kimia adalah hubungan antara dua disiplin ilmu, yaitu kimia yang melibatkan reaksi kimia yang spesifik terhadap analit tertentu dengan instrumen, yang mampu mengalami perubahan dari perubahan fisika kimia tersebut menjadi sinyal listrik sehingga mudah dibaca baik secara analog dengan jarum penunjuk maupun secara digital, dengan *digital display* (Kuswandi, 2010).

Secara umum mekanisme dari suatu sensor kimia dapat dirancang atau didesain sesuai dengan karakteristik analit yang ingin dideteksi. Beberapa bentuk-bentuk reaksi yang dapat dirancang dalam mengembangkan sebuah sensor kimia adalah sensor kimia berbasis reaksi transfer muatan dan sensor kimia berbasis reaksi kunci-anak kunci (*key-lock*). 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

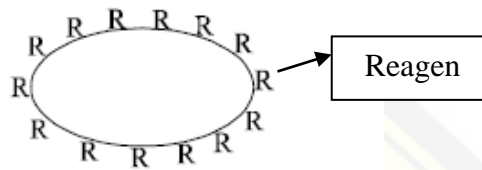
akseptor-donor dari reaksi adsorpsi kimiawi (*chemisorption*) antara analit dengan lapisan sensor (Kuswandi, 2010).

## **2.7 Tinjauan tentang Teknik Imobilisasi**

Imobilisasi reagen dapat didefinisikan sebagai pengikatan reagen pada fase padat atau material pendukung, yang memungkinkan untuk terjadinya pertukaran dengan larutan sampel dimana terdapat analit untuk dideteksi. Pengikatan reagen ini dapat dilakukan dengan berbagai cara, yaitu fisika dan kimia. Secara garis besar imobilisasi reagen dapat digolongkan pada dua jenis metode imobilisasi yaitu metode fisika dan metode kimia. Metode imobilisasi secara fisik meliputi proses penyerapan (*adsorption*), pemerangkapan (*entrapment*), pengkapsulan (*encapsulation*) dan interaksi elektrostatis. Sedangkan secara kimia meliputi pembentukan ikatan kovalen dan ikatan silang (*cross-linking*) (Kuswandi, 2010).

### **2.7.1 Adsorpsi**

Adsorpsi adalah bentuk yang paling mudah dalam imobilisasi reagen pada material pendukung. Teknik ini juga sangat luas digunakan, karena bisa digunakan untuk mengikat berbagai macam reagen dari material reagen organik hingga anorganik. Meskipun demikian, adhesi dari reagen pada fasa padat biasanya lebih lemah karena ikatan yang berbentuk selama proses adsorpsi tidak mudah untuk ditentukan. Biasanya dalam banyak kasus ikatan hidrogen dan ikatan *Van der Waals* banyak terlibat dalam imobilisasi secara adsorpsi. Dalam banyak kasus, adsorpsi ionik bisa menjadi pertimbangan, tetapi adsorpsi nonionik bisa pula terjadi. Karenanya, untuk asumsi yang secara mudah adsorpsi biasanya digunakan untuk proses dimana reagen diserap oleh material pendukung (Kuswandi, 2010). Imobilisasi reagen dengan teknik adsorpsi ditunjukkan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Teknik adsorpsi

Kelebihan dari teknik imobilisasi ini antara lain :

- a. Prosedur yang mudah
- b. Biaya imobilisasi murah
- c. Kapasitas pengikatan tinggi, serta
- d. Mobilitas partikel tinggi (Kuswandi, 2010).

### 2.7.2 Enkapsulasi

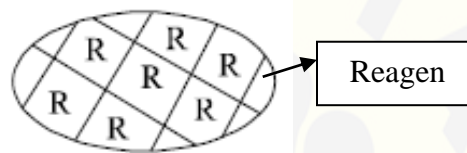
Salah satu teknik imobilisasi reagen secara fisika adalah dengan teknik enkapsulasi atau sering pula disebut mikroenkapsulasi. Pada teknik ini digunakan membran semipermeabel untuk memerangkap atau menjerat reagen kimia pada permukaan sensor (Kuswandi, 2010). Metode ini tidak terganggu dengan adanya enzim, tidak mudah terkontaminasi dan mengalami biodegradasi (Eggins, 2002).

Material membran yang sering digunakan adalah *cellulose acetate*, *polycarbonate*, *polytetrafluoroethylene* (Teflon) dan PVC (*polyvinylchloride*) (Eggins, 2002; Kuswandi, 2010). Teknik imobilisasi dengan enkapsulasi cukup stabil terhadap perubahan suhu, pH, kekuatan ion dan komposisi kimia (Eggins, 2002). Karenanya, teknik imobilisasi ini banyak digunakan dalam pengembangan sensor kimia, contohnya pada pengembangan sensor selektif ion dengan menggunakan PVC (Kuswandi, 2010).

### 2.7.3 Pemerangkapan (*Entrapment*)

Pada metode *entrapment*, dimana unsur selektif terjebak dalam matriks gel, pasta atau polimer. Dalam metode ini, gel polimer dibuat dalam larutan yang mengandung biomaterial, sehingga enzim dapat terjebak dalam matriks gel. Polimer

yang paling umum digunakan adalah poliakrilamida yang dibuat dengan cara kopolimerisasi akrilamida dengan N,N'-metilenbisakrilamida. Polimerisasi dapat dilakukan dengan iradiasi UV dengan adanya vitamin B1 sebagai fotosensitizer. Bahan lain yang telah digunakan meliputi gel pati, nilon, gel silastik dan polimer pengatur (seperti polipirol) (Eggins, 2002). Imobilisasi reagen dengan teknik *entrapment* ditunjukkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Teknik *entrapment*

Beberapa kekurangan metode ini adalah sebagai berikut:

- Hambatan besar (*large barrier*), sehingga menghambat difusi substrat, yang memperlambat reaksi, dan menyebabkan lamanya waktu respon sensor.
- Hilangnya aktivitas enzim melalui pori-pori dalam gel, meskipun demikian dapat diatasi dengan *cross-linking*, misalnya dengan glutaraldehida (Eggins, 2002).

#### 2.7.4 Ikatan silang (*Cross-linking*)

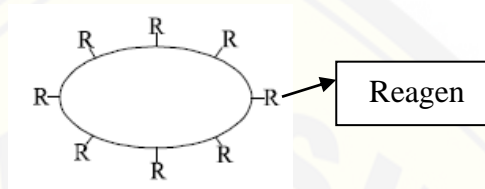
Pada metode ini, biomaterial secara kimia terikat pada pendukung padat atau bahan pendukung lainnya (Eggins, 1996). Agen bifungsional digunakan untuk membentuk ikatan kimia terhadap komponen selektif (Eggins, 2002). Reagen bifungsional yang biasa digunakan seperti glutaraldehida. Metode *cross-linking* terbukti menjadi metode yang berguna untuk menstabilkan enzim yang teradsorpsi. Metode ini sering digunakan bersamaan dengan metode lain, seperti adsorpsi atau mikroenkapsulasi (Eggins, 2002).

Kekurangan dari metode ini antara lain :

- Kerusakan disebabkan enzim
- Difusi substrat terbatas



- c. Rigiditas yang buruk (Eggins, 2002).



Gambar 2.5 Teknik *cross-linking*

### 2.7.5 Ikatan Kovalen

Ikatan kimia kovalen terbentuk dari komponen selektif dan transduser. Beberapa gugus fungsi dapat terikat secara kovalen dengan matriks pendukung (transduser atau membran). Metode ini menggunakan kelompok nukleofilik seperti  $\text{NH}_2$ ,  $\text{CO}_2\text{H}$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$  dan  $\text{SH}$ , serta imidazol. Reaksi semacam itu perlu dilakukan pada beberapa kondisi, yaitu suhu rendah, kekuatan ion rendah dan tingkat pH dalam rentang fisiologis. Keuntungan dari metode ini adalah enzim tidak mudah lepas saat digunakan. Untuk melindungi sisi aktif, reaksinya sering dilakukan dengan adanya substrat (Eggins, 2002).

## 2.8 Tinjauan tentang Karakteristik Sensor Kimia

Menurut Kuswandi (2010), performansi atau karakteristik sensor kimia meliputi daerah kerja linier, limit kuantifikasi dan limit deteksi, akurasi, dan waktu respon serta waktu pakai sensor.

### 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 linearitas yang dapat diterima. Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi  $r$  pada analisis regresi linier  $Y =$

$a + bX$ . Hubungan linier yang ideal dicapai jika nilai  $b = 0$  dan  $r = +1$  atau  $-1$  bergantung pada arah garis (Harmita, 2004).

**2.8.2 Batas Kuantitasi dan Batas Deteksi**

Batas kuantitasi dapat diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita, 2004). Batas kuantifikasi atau LOQ (*limit of quantification*) dari suatu sensor dapat dihitung sesuai dengan Persamaan 2.2

$$LOQ = 10S_{bl} / m \dots\dots\dots 2. 2$$

Dimana  $m$  adalah slop dari kurva kalibrasi,  $s_{bl}$  adalah standar deviasi dari sinyal blanko. 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 2.3-2.5.

$$S_m = S_{avg,bl} + K S_{bl} \dots\dots\dots 2. 3$$

$$C_m = (S_m - S_{avg,bl}) / m \dots\dots\dots 2. 4$$

$$C_m = K S_{bl} / m \dots\dots\dots 2. 5$$

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

### 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 2.6

$$d_i = |x_i - \bar{x}| \dots\dots\dots 2.6$$

Dimana  $x_i$  adalah respon sensor dan  $\bar{x}$  adalah rata-rata respon sensor. Disamping persamaan diatas, presisi dari respon sensor terhadap analit sering pula dinyatakan dalam ukuran reproduibilitas dari suatu set pengukuran sensor terhadap analit (Kuswandi, 2010). Kriteria penerimaan RSD pada uji presisi dapat dilihat pada tabel Tabel 2.2 Kriteria penerimaan studi akurasi dan presisi pada konsentrasi analit yang berbeda (Yuwono dan Indrayanto, 2005)

Konsentrasi analit (%)	Unit	Mean recovery (%)	Presisi (RSD, %)
100	100%	98-102	1,3
$\geq 10$	10%	98-102	2,8
$\geq 1$	1%	97-103	2,7
$\geq 0,1$	0,1%	95-105	3,7
0,01	100 ppm	90-107	5,3
0,001	10 ppm	80-110	7,3
0,0001	1 ppm	80-110	11
0,00001	100 ppb	80-110	15
0,000001	10 ppb	60-115	21
0,0000001	1 ppb	40-120	30

### 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 ( $E_r$ ), seperti yang diberikan pada persamaan 2.7-2.8.

$$E = x_i - x_t \dots\dots\dots 2.7$$

$$E_r = (x_i - x_t) / x_t * 100\% \dots\dots\dots 2.8$$

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

### 2.8.5 Interferensi

Menurut Harmita (2004), interferensi dapat diartikan sebagai derajat penyimpangan (*degree of bias*) metode yang dilakukan terhadap sampel yang mengandung bahan yang ditambahkan berupa cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya, dan dibandingkan terhadap hasil analisis standar murni. Interferensi merupakan salah satu parameter penting dari suatu sensor karena parameter ini sering menentukan layak tidaknya suatu sensor kimia digunakan dalam pengukuran suatu analit. Nilai % interferensi yang diperbolehkan pada sensor adalah  $\leq 5\%$  (Kuswandi, 2010). Nilai % interferensi dapat dihitung berdasarkan persamaan 2.9.

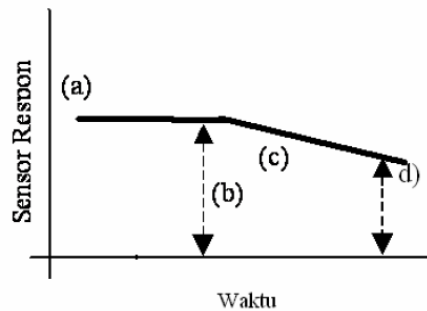
$$\% \text{Interferensi} = (\text{Mean blue uji} - \text{Mean blue standar}) / \text{Mean blue standar} * 100\% \dots 2.9$$

### 2.8.6 Waktu Respon dan Waktu Pakai

Waktu respon dari suatu piranti analisis seperti sensor kimia, sesuai dengan rekomendasi dari IUPAC 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), seperti yang ditunjukkan pada gambar 7. 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).



Gambar 2.6 Waktu pakai sensor yang dapat ditentukan mulai (a) hingga batas (b). Waktu pakai mulai turun pada (c) hingga (d).

### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian *eksperimental laboratoris*.

#### 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

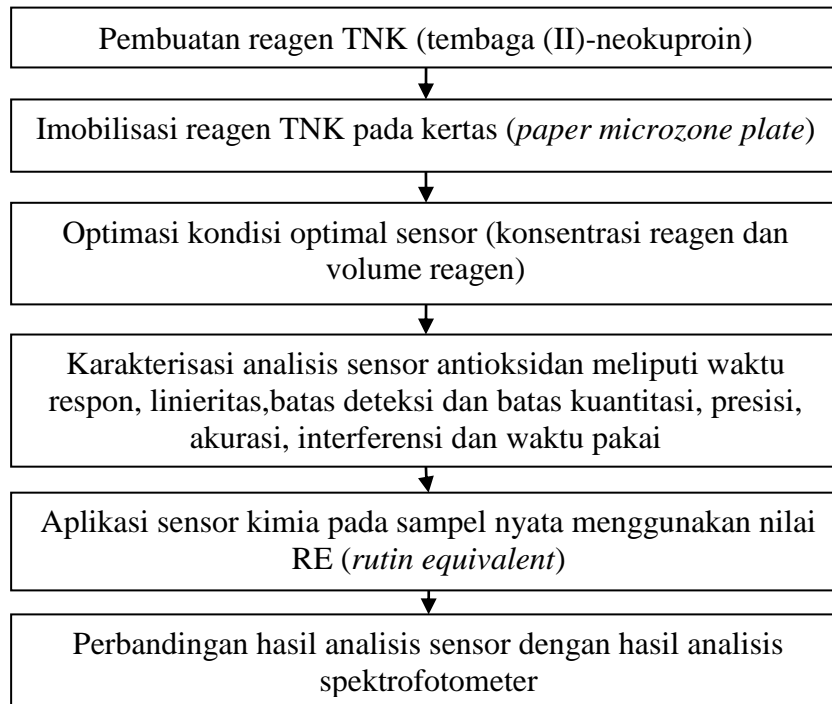
Penelitian ini dilakukan mulai bulan Januari 2018 sampai selesai, bertempat di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jember.

#### 3.3 Definisi Operasional

- a. Metode CUPRAC menggunakan campuran larutan tembaga(II) klorida-neokuproin (TNK).
- b. Sensor antioksidan berbasis kertas (*paper microzone plates*) adalah sensor yang dibuat dengan cara mengimobilisasi reagen TNK ke dalam kertas saring.
- c. Aktivitas antioksidan adalah kemampuan suatu senyawa untuk meredam warna biru dari pereaksi CUPRAC.
- d. Aktivitas antioksidan yang diukur dinyatakan dengan mM ekuivalen rutin (*RE/ Rutin Equivalent*) (Bener dkk., 2010).
- e. RE adalah pengukuran aktivitas antioksidan dari zat yang tertentu, dibandingkan dengan standar rutin
- f. Pengambilan gambar perubahan warna pada larutan uji dalam kertas saring dengan menggunakan *scanner*.
- g. RGB (*red, green, blue*) adalah analisis warna yang digunakan pada aplikasi *ImageJ* untuk mengetahui perubahan warna yang terjadi pada saat pereaksi CUPRAC direaksikan dengan larutan sampel.
- h. Respon sensor berupa intensitas warna dalam satuan piksel (*pixel*) menggunakan nilai rerata biru (*mean blue*).

- i. *Mean blue* adalah rata-rata pengukuran nilai warna biru dari larutan uji.

### 3.4 Diagram Alur Penelitian



Gambar 3.1 Diagram alur penelitian

### 3.5 Alat dan Bahan

#### 3.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain *ball pipet*, *scanner (Canon Lide 110 Canoscan)*, *vortex (Thermo Scientific® M16710-33 Maxi Mix)*, mikropipet, neraca analitik, kertas saring, *white tip*, *yellow tip*, *stopwatch*, *eppendorf*, kuvet, spektrofotometer UV-Vis (*Thermo Scientific GENESYS 10S*) dan seperangkat alat gelas.

#### 3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi rutin,  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (SAP Chemicals), neocuproin (Sigma Aldrich),  $\text{NH}_4\text{Ac}$  (Merck), etanol *p.a*, akuades,

serbuk daun jambu biji (*Psidium guajava* L.), rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) yang diperoleh dari Toko Jamu “Surabaya” Jember, daun teh hitam “Sariwangi” dan daun teh hijau “Kepala Djenggot” yang diperoleh dari Toko “Golden Market” Jember.

### **3.6 Prosedur Penelitian**

#### **3.6.1 Preparasi Larutan Induk Rutin**

Larutan induk rutin I 10 mM dibuat dengan melarutkan 152,052 mg rutin menggunakan etanol *p.a* dalam labu ukur 25 ml sampai tanda batas labu ukur. Larutan induk rutin II 20 mM diperoleh dengan cara melarutkan 122,104 mg rutin menggunakan etanol *p.a* dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas labu ukur.

#### **3.6.2 Preparasi Larutan Standar Rutin**

Dari larutan induk I masing-masing dipipet sejumlah 1, 2, dan 4 ml larutan rutin menggunakan pipet volume, kemudian dilarutkan dengan 10 ml etanol *p.a* hingga diperoleh larutan rutin dengan konsentrasi 1, 2, dan 4 mM. Dari larutan induk II masing-masing dipipet sejumlah 3, 4 ml larutan rutin menggunakan pipet volume, kemudian dilarutkan dengan 10 ml etanol *p.a* hingga diperoleh larutan rutin dengan konsentrasi 6 dan 8 mM.

#### **3.6.3 Preparasi Sampel**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun jambu biji (jambu merah dan jambu putih), ekstrak etanol rimpang kunyit, dan ekstrak air daun teh (teh hitam dan teh hijau). Preparasi sampel dilakukan dengan menimbang 200 mg sampel (serbuk daun jambu biji, serbuk rimpang kunyit dan serbuk daun teh) dan ditambahkan dengan etanol *p.a* 10 ml pada serbuk jambu biji dan kunyit serta akuades 10 ml pada serbuk teh untuk mendapatkan konsentrasi 2%. Kemudian, sampel diultrasonik selama 10 menit dan disaring dengan kertas saring, sehingga



didapatkan residu dan filtrat. Filtrat dari sampel tersebut siap digunakan untuk analisis penentuan aktivitas antioksidan. Didapatkan konsentrasi sampel daun jambu biji, rimpang kunyit dan daun teh sebesar 2%.

#### **3.6.4 Pembuatan Kurva Baku Rutin**

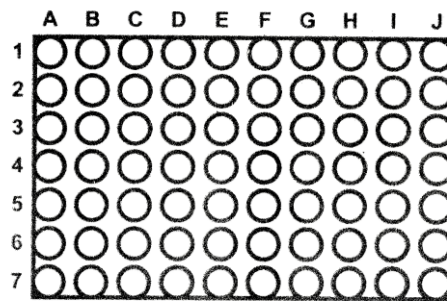
Larutan standar rutin dipipet sejumlah tertentu, ditambahkan dalam setiap area kerja yang telah berisi reagen TNK. Kemudian dilakukan pengukuran intensitas warna. Replikasi dilakukan sebanyak tiga kali. Dari data tersebut, diperoleh persamaan kurva baku menggunakan regresi linier.

#### **3.6.5 Pembuatan Reagen TNK**

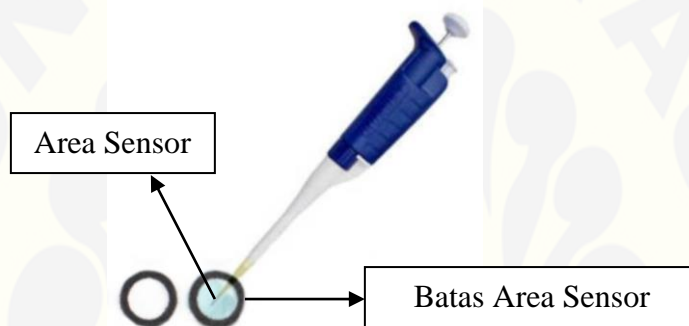
Reagen TNK dibuat dengan mencampurkan  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  1 M, neokuproin 0,0075 M, dan  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  10 M. Ketiga larutan tersebut dibuat dengan cara menimbang  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , neokuproin menggunakan neraca analitik masing-masing sebanyak 1,7048 gram dan 0,039 gram untuk dilarutkan dalam etanol p.a. 10ml dalam keadaan terpisah serta menimbang  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  sebanyak 7,708 gram, kemudian dilarutkan dalam *aquadest* 10 ml.

#### **3.6.6 Pembuatan Sensor Berbasis Kertas (*Paper Microzone Plates*)**

Pada pembuatan sensor ini, kertas yang digunakan adalah kertas whattman No.1 dengan diameter 125 mm. Setiap lembar kerja terdiri dari 10 kolom dan 7 baris lubang, dengan diameter masing-masing lubang 0,6 cm. Tinta yang digunakan adalah pasta karet. Pembuatan sensor berbasis kertas ditunjukkan oleh Gambar 3.2. Area kerja berada dalam setiap lubang lingkaran yang telah diimobilisasi reagen TNK seperti yang ditunjukkan pada gambar 3.3.



Gambar 3.2 Desain sensor berbasis kertas



Gambar 3.3 Area kerja pada sensor kertas

### 3.6.7 Prosedur Pengukuran Intensitas Warna

Pembacaan sensor antioksidan dianalisis dengan program “*ImageJ*”. Untuk pengujian menggunakan sensor CUPRAC dilakukan dengan mengimobilisasi reagen TNK pada kertas kemudian masing-masing sampel dilakukan tiga kali replikasi. Setelah itu, dilakukan pemeriksaan intensitas warna yang dihasilkan dan diperoleh data *mean blue*.

### 3.6.8 Optimasi Reagen TNK

#### 3.6.8.1 Optimasi Volume Kertas Saring

Beberapa macam volume larutan reagen TNK yakni 1  $\mu\text{l}$ , 2  $\mu\text{l}$ , 3  $\mu\text{l}$ , dan 4  $\mu\text{l}$ . Masing-masing volume larutan reagen TNK tersebut diimobilisasi ke dalam kertas saring, kemudian diamati dengan memperhatikan volume larutan dan warna yang dihasilkan di seluruh area permukaan setiap *spot* kertas.

### 3.6.8.2 Optimasi Konsentrasi Reagen TNK

Konsentrasi reagen TNK dipilih berdasarkan warna biru yang dihasilkan. Warna biru dipengaruhi oleh konsentrasi  $\text{CuCl}_2$  dan  $\text{NH}_4\text{Ac}$  sehingga dibuat konsentrasi  $\text{CuCl}_2$  0,8 M dan 1 M, serta  $\text{NH}_4\text{Ac}$  8 M dan 10 M. Masing-masing larutan tersebut dimasukkan *ependorf* yang telah berisi campuran  $\text{NH}_4\text{Ac}$ , dan neokuproin, masing-masing sebesar 100  $\mu\text{l}$  kemudian di-*vortex*. Campuran larutan diimobilisasi sebesar 3  $\mu\text{l}$  pada kertas saring. Konsentrasi reagen TNK yang digunakan ialah konsentrasi yang memberikan warna biru yang signifikan dan mempunyai nilai slope dan  $r$  yang baik.

## 3.6.9 Karakterisasi Sensor Kimia

### 3.6.9.1 Waktu Respon

Waktu respon merupakan waktu yang dibutuhkan untuk bereaksi dengan reagen TNK sampai terjadi perubahan warna yang sempurna. Konsentrasi larutan standar yang digunakan untuk menentukan waktu respon yaitu 4 mM dan direplikasi tiga kali. Pengukuran intensitas warna dilakukan setiap 2 menit. Penentuan waktu respon dengan membuat kurva antara waktu (menit) vs nilai *mean blue*. Waktu respon ditentukan dengan cara mengukur intensitas warna sensor pada waktu pertama kali respon sensor menghasilkan sinyal yang stabil.

### 3.6.9.2 Linieritas

Penentuan linieritas dilakukan dengan cara menguji reagen TNK pada standar rutin dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 mM. Sebagai parameter adanya hubungan linieritas digunakan koefisien korelasi ( $r$ ) antara konsentrasi standar dengan intensitas warna. Koefisien korelasi dihitung menggunakan analisis regresi linier  $y = bx + a$ , dimana hubungan linier akan ideal bila harga  $r$  mendekati +1 atau -1.

### 3.6.9.3 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) dilakukan dengan cara menguji reagen TNK pada standar rutin konsentrasi 2-10 mM, Kemudian diukur intensitas warna dengan menentukan nilai  $\Delta mean\ blue$ . Perhitungan LOD dan LOQ dilakukan dengan menggunakan Persamaan 2.3-2.6 pada persamaan regresi yang diperoleh dari kurva baku pada linieritas.

### 3.6.9.4 Presisi

Presisi dilakukan dengan cara mengukur sampel kunyit 2% sebanyak 6 (enam) kali pengulangan kemudian dihitung kedekatan pengukuran dari nilai RSD. Kemudian diukur intensitas warna pada tiap pengulangan. Pengukuran presisi dilakukan selama 3 hari berbeda.

### 3.6.9.5 Akurasi

Penentuan akurasi ditentukan dengan menghitung persen *recovery* dari 3 kali penambahan analit yang diukur berdasarkan pengukuran reagen TNK dalam sampel kunyit. Pengukuran intensitas warna akan didapatkan hasil kadar pengukuran alat yang kemudian dibagi kadar penambahan standar berdasarkan persamaan  $\% recovery$  seperti yang tersaji pada Persamaan 2.7-2.8.

### 3.6.9.6 Interferensi

Interferensi ditentukan dengan membandingkan hasil analisis sampel yang mengandung komponen pengganggu dengan hasil pengukuran sampel tanpa penambahan komponen pengganggu. Komponen pengganggu yang diberikan berupa amilum dan sukrosa. Penentuan interferensi dilakukan pada standar rutin 6 mM yang telah diberi pengganggu amilum dan sukrosa masing-masing ditambahkan dengan perbandingan 1:1, 1:10 dan 1:100. Adanya interferensi amilum dan sukrosa

ditentukan dengan mengukur intensitas warna dibandingkan dengan standar yang tidak mengandung komponen pengganggu.

### 3.6.9.7 Waktu Pakai

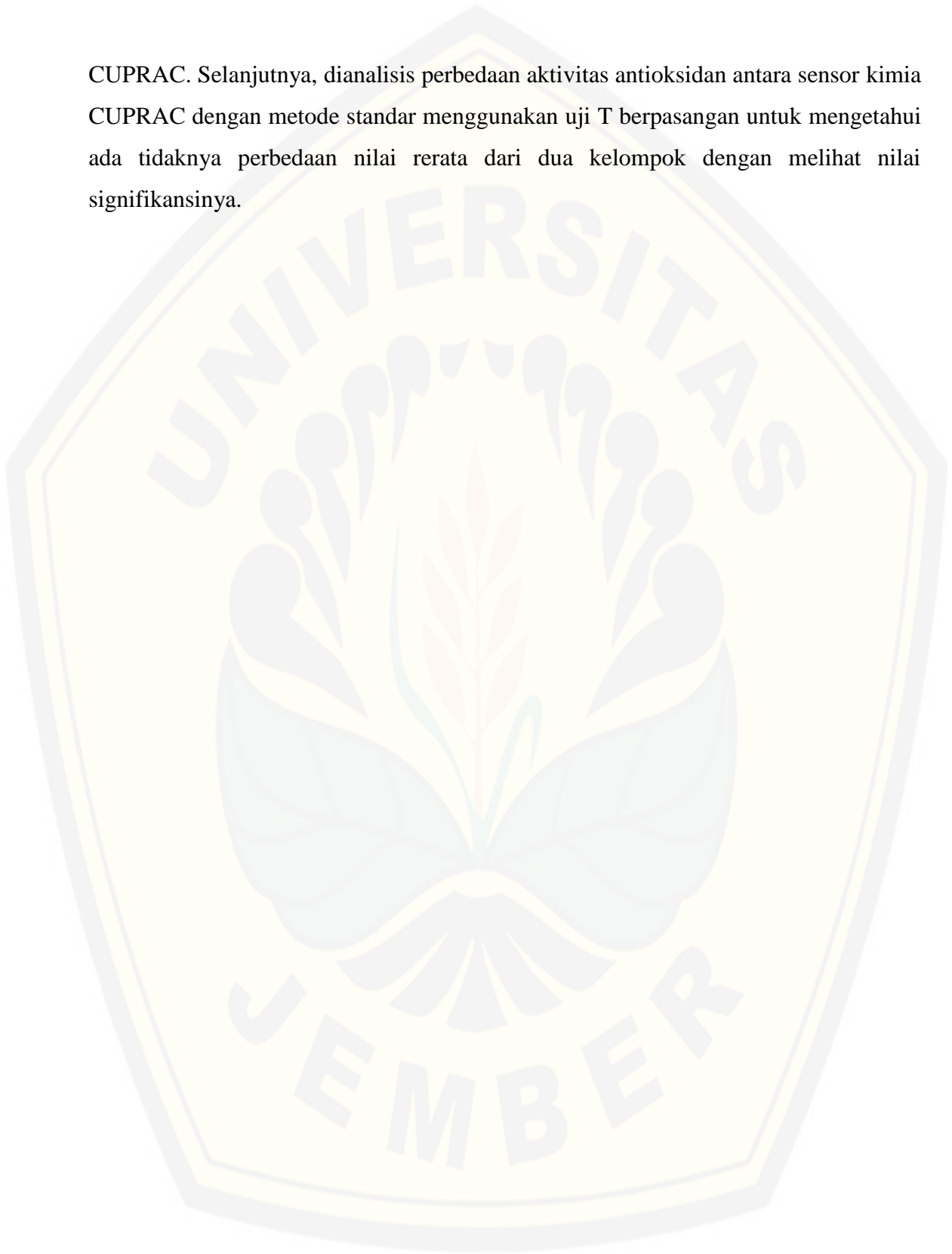
Penentuan waktu pakai sensor dilakukan dengan mengamati sensor yang disimpan pada suhu kamar  $\pm 25$  °C dan suhu lemari es  $\pm 4$  °C. Penentuan waktu pakai dilakukan dengan mengukur intensitas warna dengan penambahan standar rutin 4 mM sebanyak volume tertentu dari pertama kali disimpan. Pengukuran intensitas warna dilakukan setiap 30 menit pada suhu kamar 25°C dan pengamatan setiap 24 jam pada suhu lemari es 4°C sampai diketahui sudah tidak layak digunakan (memiliki nilai *mean blue* lebih dari 15% dibandingkan dengan nilai *mean blue* pertama). Penentuan waktu pakai selanjutnya dibuat kurva hubungan antara waktu dengan intensitas warna.

### 3.7 Aplikasi Sensor pada Sampel Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.), Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L.), dan Daun Teh Hitam (*Camellia sinensis* L.) Dibandingkan dengan Spektrofotometer

Aplikasi ini dilakukan dengan membandingkan dua metode yang berbeda, yakni metode CUPRAC pada kertas dengan metode CUPRAC pada spektrofotometer. Reagen TNK yang telah diimobilisasi pada kertas ditambahkan 3  $\mu$ l larutan sampel. Perubahan warna kertas diukur menggunakan *scanner* setelah semua antioksidan meredam reagen TNK. Analisis perubahan warna dilakukan dengan mengukur intensitas warna. Nilai  $\Delta$  *mean blue* dimasukkan ke dalam persamaan regresi standar rutin (y) dan diperoleh kadar sampel (x) atau aktivitas antioksidan yang menunjukkan mM RE.

Metode yang digunakan sebagai pembanding yakni spektrofotometer. Larutan standar rutin 500  $\mu$ l berbagai konsentrasi ditambah larutan reagen TNK 500  $\mu$ l. Setelah 30 menit diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang maksimal

CUPRAC. Selanjutnya, dianalisis perbedaan aktivitas antioksidan antara sensor kimia CUPRAC dengan metode standar menggunakan uji T berpasangan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan nilai rerata dari dua kelompok dengan melihat nilai signifikansinya.



## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diperoleh beberapa kesimpulan antara lain :

1. Kondisi optimum yang digunakan dalam mendeteksi aktivitas antioksidan adalah volume reagen TNK sebanyak 3 $\mu$ l, konsentrasi CuCl<sub>2</sub>, Nc, dan NH<sub>4</sub>Ac berturut-turut adalah 1 M; 0,0075 M; dan 10 M.
2. Karakterisasi sensor antioksidan meliputi :
  - a. Waktu respon sensor antioksidan adalah 18 menit.
  - b. Daerah kerja sensor antioksidan terhadap standar rutin berada pada rentang 2-10 mM, dengan nilai koefien korelasi (r) adalah 0,998 dan nilai Vx0 2,688%. Nilai batas deteksi (LOD) sebesar 1,393 mM dan batas kuantitasi (LOQ) sensor antioksidan sebesar 3,019 mM.
  - c. Sensor CUPRAC memenuhi parameter presisi, dimana nilai RSD-nya <2,7% terhadap sampel ekstrak etanol kunyit 2% yang dilakukan dengan tiga hari berbeda yaitu 0,646%; 1,671%; dan 1,932%.
  - d. Sensor antioksidan memenuhi parameter akurasi, dengan nilai %*recovery* rata-rata sebesar 99,514%.
  - e. Deteksi aktivitas antioksidan tidak terganggu dengan adanya sukrosa dan amilum sampai dengan perbandingan 1:1 (b/b).
  - f. Sensor antioksidan stabil dalam penyimpanan pada suhu 25°C selama 90 menit dan pada suhu 4°C selama 5 hari.
3. Hasil nilai signifikansi uji t berpasangan dari sampel ekstrak etanol rimpang kunyit, ekstrak air teh hitam, ekstrak etanol daun jambu merah, ekstrak etanol daun jambu putih, dan ekstrak air teh hijau, masing-masing sebesar 0,068; 0,077; 0,078; 0,089 dan 0,866. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada

perbedaan yang signifikan antara kedua metode yaitu sensor CUPRAC dan spektrofotometer (nilai signifikansi  $\geq 0,05$ ).

## 5.2 Saran

Pada penelitian selanjutnya diharapkan dapat menghasilkan sensor antioksidan dengan waktu respon yang lebih cepat dan waktu pakai yang lebih lama pada penyimpanan suhu kamar maupun suhu lemari es.



**DAFTAR PUSTAKA**

- Abdullatif. 2016. Daya hambat ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val. ) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* secara in vitro. *Jurnal UMS*. 4(1)
- Apak, R., K. Guclu, M. Ozyurek, S. E. Karademir, dan E. Ercag. 2006. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 57(5/6):292–304.
- Bener, M., M. Ozyurek, K. Guclu, dan R. Apak. 2010. Development of a low-cost optical sensor for cupric reducing antioxidant capacity. *Analytical Chemistry*. 82(10):4252–4258.
- Cai, W., R. Mahmud, S. Pillai, dan S. Perumal. 2012. Antioxidant activities of essential oil of *Psidium guajava* L. leaves. *Biological & Environmental Engineering Society*. 2:86–91.
- Chen, H. 2007. Food chemistry antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guajava* L.) leaves. *Food Chemistry*. 101:686–694.
- Cleverdon, R., Y. Elhalaby, M. McAlpine, W. Gittings, dan W. Ward. 2018. Total polyphenol content and antioxidant capacity of tea bags : comparison of black , green , red rooibos , chamomile and peppermint over different steep times. *Beverages*. 4(15):1–13.
- Dahlan, S. 2014. *Statistik Untuk Kedokteran Dan Kesehatan: Deskriptif, Bivariat, Dan Multivariat, Dilengkapi Aplikasi Menggunakan SPSS*. Edisi edisi 6. Jakarta: Salemba Medika.
- Díaz-de-cerio, E., A. M. Gómez-caravaca, V. Verardo, A. Fernandez-Gutierrez, dan A. Segura-Carretero. 2016. Determination of guava (*Psidium guajava* L .) leaf phenolic compounds using HPLC-DAD-QTOF-MS. *Journal of Functional Foods*. 22:376–388.

- Eggins, B. 1996. *Biosensors*. Northern Ireland: John Wiley&Sons, LTD.
- Eggins, B. 2002. *Chemical Sensors and Biosensors*. Northern Ireland: John Wiley&Sons, LTD.
- Frei, B., R. Stocker, dan B. N. Amest. 1988. Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. *Medical Sciences*. 85(December):9748–9752.
- Gomes dan Rebelo. 2003. A new laccase biosensor for polyphenols determination. *Sensors*. 166–175.
- Hagerman, A. E., K. M. Riedl, dan R. E. Rice. 1999. *Tannins as Biological Antioxidants*. Dalam *Plant Polyphenols 2: Chemistry, Biology, Pharmacology, Ecology*. New York: Plenum Publisher.
- Halliwell, B. dan J. Gutteridge. 2015. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Edisi Fifth. Oxford: Oxford University Press.
- Haque, S. A. dan S. J. P. Cañete. 2018. HPLC-CUPRAC post-column derivatization method for the determination of antioxidants: a performance comparison between porous silica and core-shell column packing. *Journal of Analytical Science and Technology*. 9(4):1–9.
- Harmita. 2004. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. I(3):117–135.
- He, Q. dan N. Venant. 2004. Antioxidant power of phytochemicals from psidium guajava leaf. *Journal of Zhejiang University SCIENCE*. 5(6):676–683.
- Hidayat, M. A., N. Puspitaningtyas, A. A. Gani, dan B. Kuswandi. 2017. Rapid test for the determination of total phenolic content in brewed-filtered coffee using colorimetric paper. *Journal of Food Science and Technology*. 54(11):3384–3390.

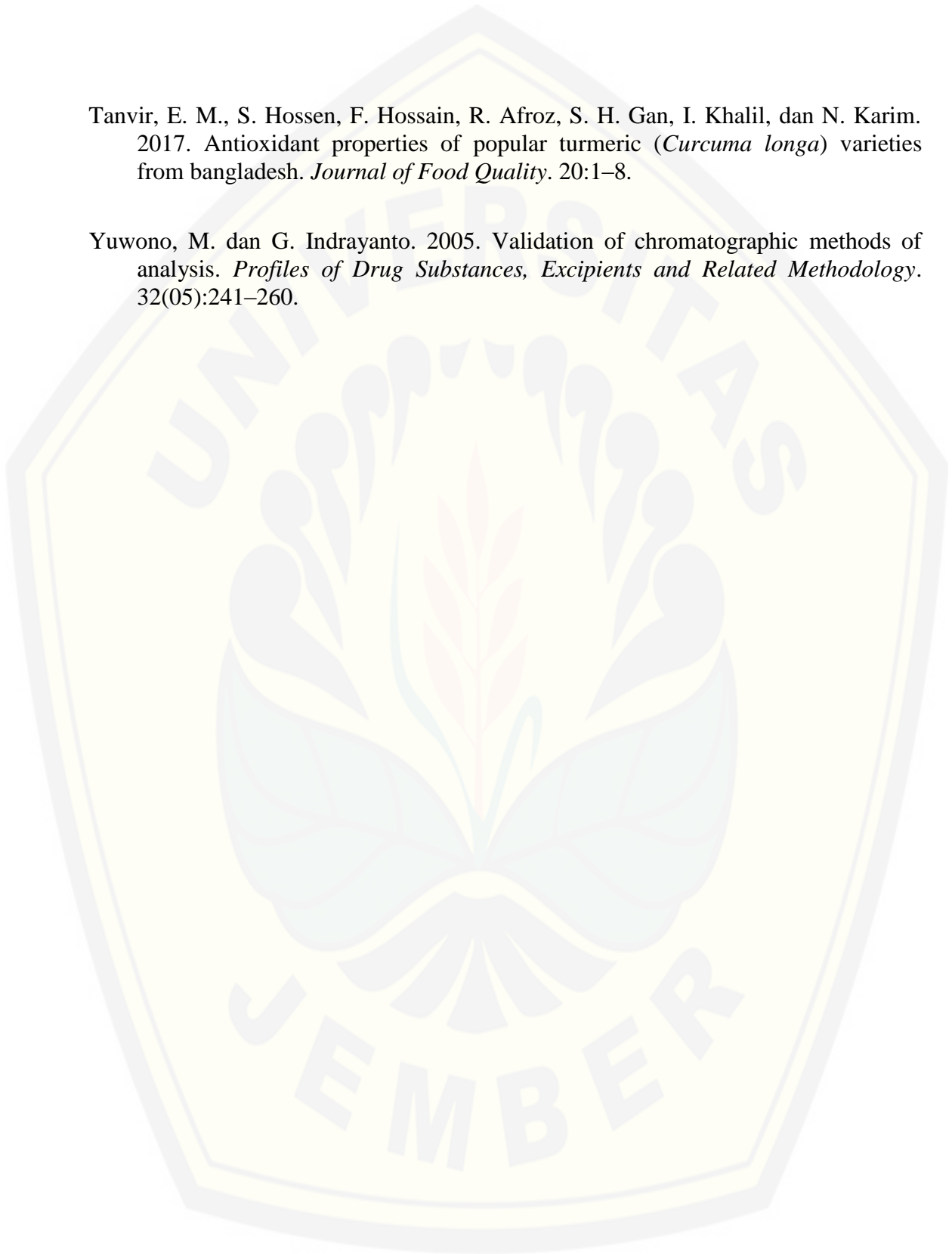
- Husna, N. El, M. Novita, dan S. Rohaya. 2013. Anthocyanins content and antioxidant activity of fresh purple fleshed sweet potato and selected products. *AGRITECH*. 33(3):296–302.
- Indriani, S. 2006. Aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* l.). *J.II. Pert. Indon*. 11(1)
- ITIS (*Integrated Taxonomic Information System*). 2017a. Taxonomic Hierarchy: *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 tanggal 22 desember 2017]
- ITIS (*Integrated Taxonomic Information System*). 2017b. Taxonomic Hierarchy: *Curcuma longa* 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 tanggal 22 desember 2017]
- ITIS (*Integrated Taxonomic Information System*). 2017c. Taxonomic Hierarchy: *Camellia sinensis* L.. [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=506801#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=506801#null) [diakses tanggal 22 desember 2017]
- Jantan, I., F. C. Saputri, M. N. Qaisar, dan F. Buang. 2012. Correlation between chemical composition of *Curcuma domestica* and *Curcuma xanthorrhiza* and their antioxidant effect on human low-density lipoprotein oxidation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 1(12)
- Khanbabaee, K. dan T. Van Ree. 2001. Tannins : classification and definition. *The Royal Society of Chemistry*. 18(11):641–649.
- Krylova, E., N. Gavrilenko, N. Saranchina, dan M. Gavrilenko. 2016. Novel colorimetric sensor for cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) measurement. *Procedia Engineering*. 168:355–358.
- Kumar, A., M. Singh, S. K. Singh, K. D. Pandey, P. Raj, dan K. Pandey. 2016. Antioxidant efficacy and curcumin content of turmeric (*Curcuma longa* L .) flower. *International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research*. 8(3)

- Kumari, N., S. Gautam, dan C. Ashutosh. 2013. *Psidium guajava* a fruit or medicine – an overview. *The Parma Innovation Journal*. 6–8.
- Kuswandi, B. 2010. *Sensor Kimia Teori, Praktek Dan Aplikasi*. Jember: Jember University Press.
- Laily, N., R. Windya, I. Sukarti, M. Rosari, dan D. Kartika. 2015. The potency of guava *Psidium guajava* L. leaves as a functional immunostimulatory ingredient. *Procedia Chemistry*. 14:301–307.
- Lobo, V., A. Patil, A. Phatak, dan N. Chandra. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods : impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*. 4(8):115–126.
- Matheos, H., M. Revolta, J. Runtuwene, dan S. Sudewi. 2014. Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun kayu bulan (*Pisonia alba*). *Jurnal Ilmiah Farmasi- UNSRAT*. 3(3):235–246.
- Maulana, E. A., A. Asih, dan M. Arsa. 2016. Isolasi dan uji aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari ekstrak daun jambu biji putih (*Psidium guajava* Linn). *Jurnal Kimia*. 1:161–168.
- Mohammed, T., S. M. Kadhim, A. M. Noori, dan S. I. Abbas. 2015. Free radicals and human health. *International Journal of Innovation Sciences and Research*. 4(6):218–223.
- Nahak, G. dan R. K. Sahu. 2011. Evaluation of antioxidant activity in ethanolic extracts of five curcuma species. *International Research Journal of Pharmacy*. 2(12):243–248.
- Ozyurek, M., K. Guclu, E. Tutem, K. S. Baskan, E. Ercag, E. Celik, S. Baki, L. Yildiz, S. Karaman, dan R. Apak. 2011. A comprehensive review of CUPRAC methodology. *The Royal Society of Chemistry*. 2439–2453.
- Pham-huy, L. A., H. He, dan C. Pham-huy. 2008. Free radicals , antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*. 4(2):89–96.

- Prior, R., X. Wu, dan K. Schaich. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. (53):4290–4302.
- Procházková, D., I. Bou, dan N. Wilhelmová. 2011. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*. 82(524):513–523.
- Riedl, K. M., S. Carando, H. M. Alessio, M. Mccarthy, dan A. E. Hagerman. 2002. Antioxidant activity of tannins and tannin- protein complexes: assessment in vitro and in vivo. *American Chemical Society*. 3(5):188–200.
- Saefudin, F. Syarif, dan Chairul. 2014. Potensi antioksidan dan aktivitas antiproliferasi ekstrak kunyit putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.). *Jurnal Biologi UNAND*. 17(3):381–390.
- Santoso, W. E. A. dan T. Estiasih. 2014. Purple sweet potato peel (*Ipomoea batatas*) anthocyanins copigmentation using copigment na-caseinate and whey protein with stability against heating. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*. 2(4):121–127.
- Satyatama, D. I. 2008. Pengaruh kopigmentasi terhadap stabilitas warna antosianin buah duwet (*Syzygium cumini*). *Jurnal Institut Pertanian Bogor*. 1(15):138.
- Sayuti, K. dan R. Yenrina. 2015. *Antioksidan Alami Dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press.
- Scheibmeir, H. D., K. Christensen, S. H. Whitaker, J. Jegaethesan, R. Clancy, dan J. D. Pierce. 2005. A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive and Critical Care Nursing*. 24–28.
- Stanojević, J. S., L. P. Stanojević, D. J. Cvetković, dan B. R. Danilović. 2015. Chemical composition, antioxidant and antiimicrobial activity of the turmeric essential oil (*Curcuma longa* L.). *Advanced Technologies*. 4(2):19–25.
- Symonowicz, M. dan M. Kolanek. 2012. Flavonoids and their properties to form chelate complexes. *Biotechnology and Food Sciences*. 76(1)
- Szulczynski, B. dan J. Gebicki. 2017. Currently commercially available chemical sensors employed for detection of volatile organic compounds in outdoor and indoor air. *Environments*. 4(21):15.

Tanvir, E. M., S. Hossen, F. Hossain, R. Afroz, S. H. Gan, I. Khalil, dan N. Karim. 2017. Antioxidant properties of popular turmeric (*Curcuma longa*) varieties from bangladesh. *Journal of Food Quality*. 20:1–8.

Yuwono, M. dan G. Indrayanto. 2005. Validation of chromatographic methods of analysis. *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*. 32(05):241–260.



## LAMPIRAN

## LAMPIRAN A. OPTIMASI KONSENTRASI REAGEN

## A.1 Tabel Optimasi Konsentrasi Reagen

a.  $\text{CuCl}_2$  0,8 M  $\text{NH}_4\text{Ac}$  10 M

Konsentrasi	Log [ ]	<i>Mean blue</i>			Rata-rata	$\Delta$ <i>mean blue</i> rata-rata	SD (%)	RSD (%)
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3				
Blanko	-	253,268	253,548	253,064	253,293	-	0,243	0,096
2	0,301	187,177	183,360	183,360	184,797	68,496	2,076	1,123
4	0,602	141,749	142,572	143,203	142,508	110,785	0,729	0,512
6	0,778	116,255	114,898	115,058	115,404	137,890	0,742	0,643
8	0,903	108,043	106,173	107,103	104,106	146,187	0,935	0,873
10	1	86,258	85,971	85,344	85,858	167,436	0,467	0,544

b.  $\text{CuCl}_2$  0,8 M  $\text{NH}_4\text{Ac}$  8 M

Konsentrasi	Log [ ]	<i>Mean blue</i>			Rata-rata	$\Delta$ <i>mean blue</i> rata-rata	SD (%)	RSD (%)
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3				
Blanko	-	252,288	252,138	252,030	252,152	-	0,130	0,051
2	0,301	190,343	192,106	189,193	190,547	61,605	1,467	0,770
4	0,602	147,391	150,677	151,568	149,879	102,273	2,200	1,468
6	0,778	119,037	119,805	116,270	118,037	134,115	1,859	1,571
8	0,903	116,800	116,173	117,359	116,777	135,375	0,593	0,508
10	1	95,716	95,001	94,979	95,232	156,920	0,419	0,440

c.  $\text{CuCl}_2$  1 M  $\text{NH}_4\text{Ac}$  10 M

Konsentrasi	Log [ ]	<i>Mean blue</i>			Rata-rata	$\Delta$ <i>mean blue</i> rata-rata	SD (%)	RSD (%)
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3				
Blanko	-	252,079	252,948	252,996	252,674	-	0,033	0,013
2	0,301	181,358	181,043	183,740	182,047	70,627	1,907	1,048
4	0,602	132,158	132,475	133,755	132,796	119,878	0,905	0,682
6	0,778	105,618	106,562	108,094	106,758	145,916	1,083	1,015
8	0,903	96,512	95,213	95,800	95,842	156,833	0,415	0,433
10	1	77,847	79,855	79,419	79,040	173,634	0,308	0,390

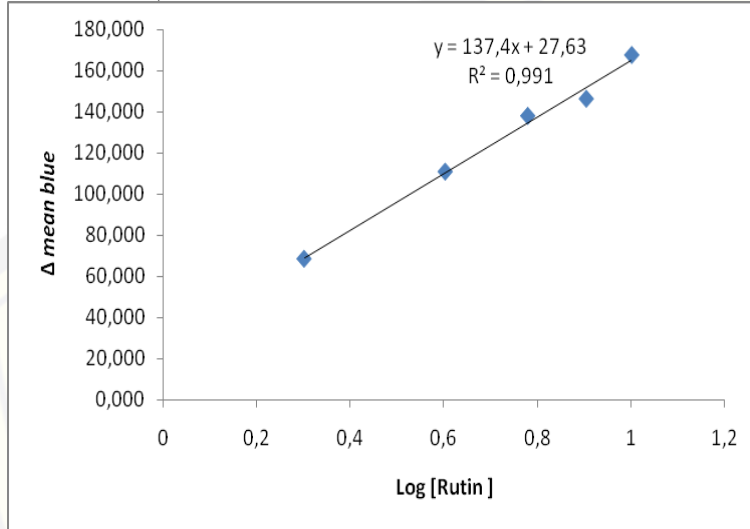
d.  $\text{CuCl}_2$  1 M  $\text{NH}_4\text{Ac}$  8 M

Konsentrasi	Log [ ]	<i>Mean blue</i>			Rata-rata	$\Delta$ <i>mean blue</i> rata-rata	SD (%)	RSD (%)
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3				
Blanko	-	252,520	252,794	252,176	252,497	-	0,309	0,123
2	0,301	185,421	186,300	185,099	185,607	66,890	0,622	0,335
4	0,602	143,221	141,586	139,993	141,600	110,897	1,614	1,140
6	0,778	119,446	119,956	119,428	119,610	132,887	0,300	0,251
8	0,903	106,225	105,855	107,673	106,584	145,912	0,961	0,901
10	1	84,198	83,541	81,099	82,946	169,551	1,633	1,969

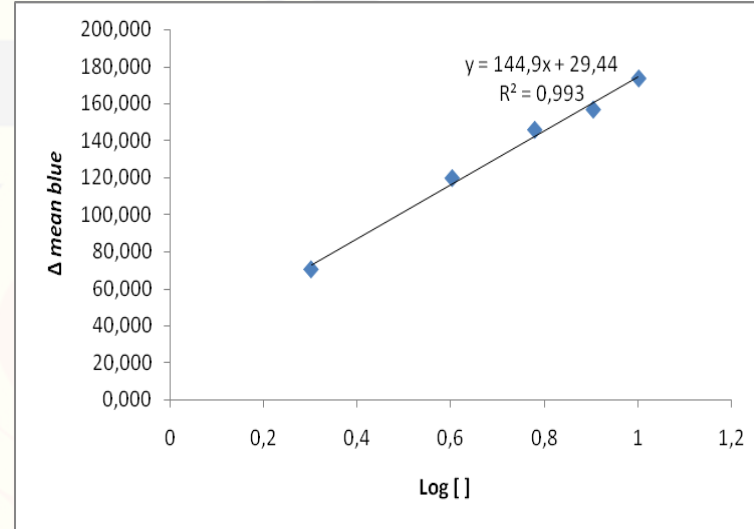


**A.2 Kurva Optimasi Konsentrasi Reagen**

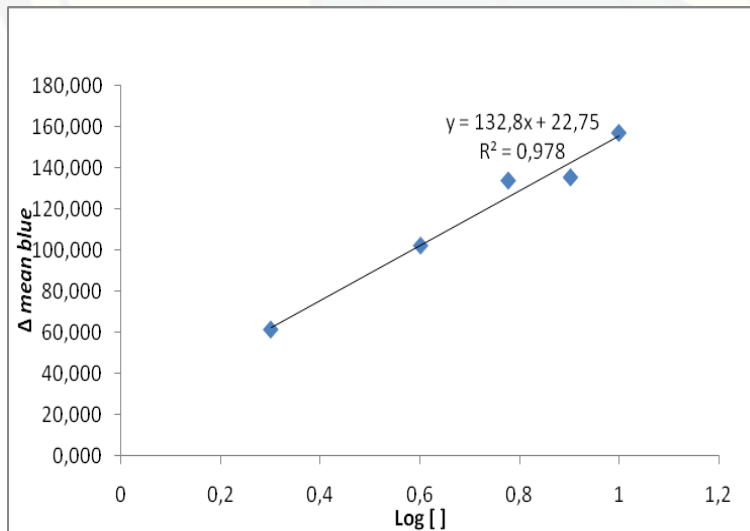
**a. CuCl<sub>2</sub> 0,8 M NH<sub>4</sub>Ac 10 M**



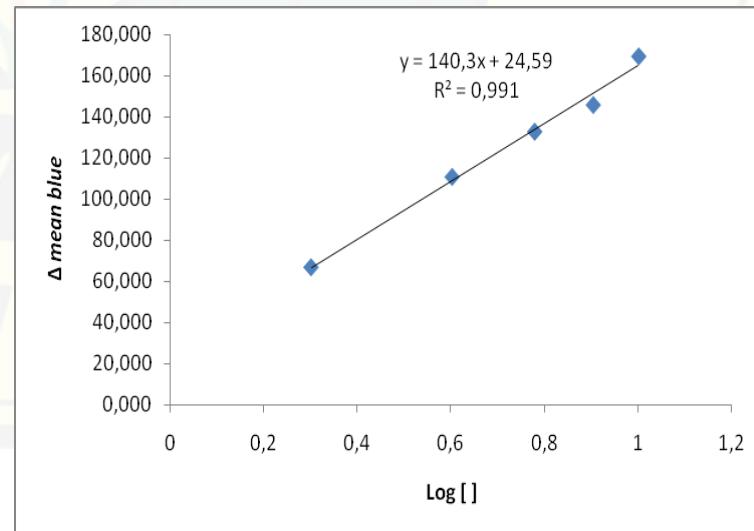
**c. CuCl<sub>2</sub> 1 M NH<sub>4</sub>Ac 10 M**



**b. CuCl<sub>2</sub> 0,8 M NH<sub>4</sub>Ac 8 M**



**d. CuCl<sub>2</sub> 1 M NH<sub>4</sub>Ac 8 M**

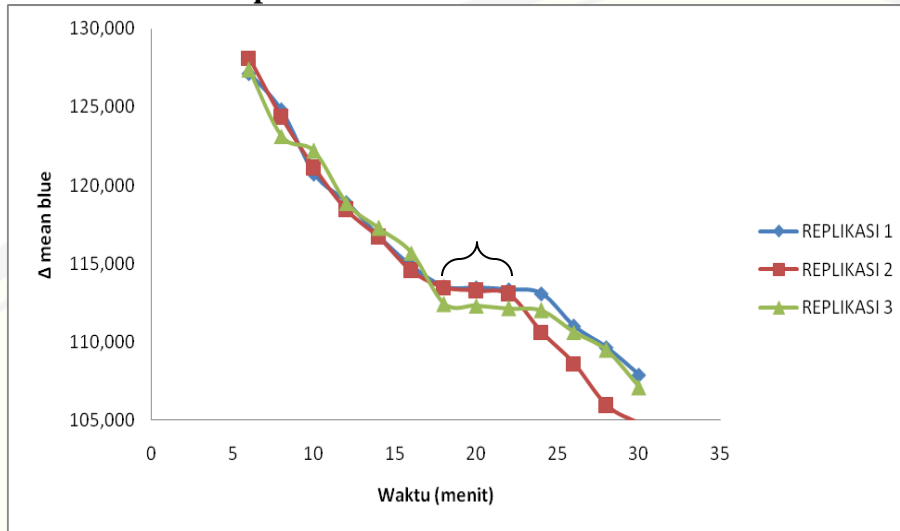


## LAMPIRAN B. WAKTU RESPON

## B.1. Tabel Waktu Respon

Waktu (menit)	<i>Mean blue</i>			Rata-rata	$\Delta$ <i>mean blue</i> rata-rata	SD (%)	RSD (%)
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3				
Blanko	253,208	253,712	254,407	253,776	-	0,602	0,237
6	126,639	125,650	126,395	126,228	127,548	0,515	0,408
8	128,998	129,446	130,646	129,697	124,079	0,852	0,657
10	133,055	132,675	131,583	132,438	121,338	0,764	0,577
12	134,869	135,337	134,930	135,045	118,731	0,254	0,188
14	137,058	137,117	136,525	136,900	116,876	0,326	0,238
16	138,909	139,225	138,099	138,744	115,032	0,581	0,419
18	140,236	140,299	141,361	140,632	113,144	0,632	0,449
20	140,307	140,517	141,468	140,764	113,012	0,619	0,439
22	140,432	140,737	141,642	140,937	112,839	0,216	0,153
24	140,669	143,166	141,772	141,879	111,897	1,237	0,872
26	142,787	145,179	143,149	143,705	110,071	1,289	0,897
28	144,142	146,842	144,305	145,430	108,346	2,091	1,438
30	145,882	148,962	146,672	147,172	106,604	1,600	1,087

**B.2. Kurva Waktu Respon**



**LAMPIRAN C. LINIERITAS**

**C.1. Tabel Linieritas**

Konsentrasi	Log [ ]	Mean blue			Rata-rata	Δ mean blue rata-rata	SD (%)	RSD (%)
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3				
Blanko	-	253,524	253,329	253,427	253,427	-	0,097	0,038
2	0,301	176,662	177,183	177,487	177,111	76,316	0,417	0,236
4	0,602	131,697	130,353	133,289	131,780	121,647	1,470	1,115
6	0,778	108,764	110,151	109,261	109,392	144,035	0,703	0,642
8	0,903	93,678	91,049	91,747	92,158	161,269	1,362	1,478
10	1	68,258	70,007	69,300	69,188	184,238	0,880	1,272

**LAMPIRAN D. BATAS DETEKSI (LOD) DAN BATAS KUANTITASI (LOQ)****D.1. Tabel Hasil Analisis Parameter Linieritas dengan Program Validasi pada Penentuan Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi**

Keterangan	Hasil
Metode	Linieritas
Probabilitas	95%
Jumlah Data	5
Persamaan Garis	$Y = 35,04 + 144,85x$
Koefisien Korelasi	0,998
$V_{xo}$	2,688
$X_p$	0,144
<p>a. Perhitungan Batas Deteksi (LOD)</p> <p>Batas Deteksi = Nilai <math>X_p</math></p> <p>Batas Deteksi = antilog 0,144 = 1,393 mM</p> <p>b. Perhitungan Batas Kuantitasi (LOQ)</p> <p>Batas Kuantitasi = <math>10/3 \times \text{LOD}</math></p> <p>= <math>10/3 \times 1,393</math></p> <p>= 3,019 mM</p>	

**LAMPIRAN E. PRESISI****E.1 Tabel Presisi****a. Hari ke-1**

Persamaan regresi :  $y=137,7x+38,21$

<b>Keterangan</b>	<b>Mean blue</b>	<b><math>\Delta</math> Mean blue</b>	<b>Aktivitas antioksidan (mM RE)</b>
Blanko	253,089	-	-
Replikasi 1	90,730	162,359	8,668
Replikasi 2	89,988	163,101	8,776
Replikasi 3	89,825	163,264	8,800
Replikasi 4	90,689	162,400	8,674
Replikasi 5	90,339	162,750	8,725
Replikasi 6	89,989	163,100	8,776
<b>Jumlah</b>			8,736
<b>SD (%)</b>			0,056
<b>RSD (%)</b>			0,646

**b. Hari ke-2**

Persamaan regresi :  $y=137,5x+37,51$

<b>Keterangan</b>	<b>Mean blue</b>	<b><math>\Delta</math> Mean blue</b>	<b>Aktivitas antioksidan (mM RE)</b>
Blanko	252,595	-	-
Replikasi 1	88,765	163,830	8,357
Replikasi 2	87,576	165,019	8,526
Replikasi 3	88,044	164,551	8,459
Replikasi 4	87,580	165,015	8,525
Replikasi 5	85,923	166,672	8,766
Replikasi 6	88,359	164,236	8,414
<b>Jumlah</b>			8,508
<b>SD (%)</b>			0,142
<b>RSD (%)</b>			1,671

c. **Hari ke-3**Persamaan regresi :  $y=137,3x+36,97$ 

<b>Keterangan</b>	<b>Mean blue</b>	<b><math>\Delta</math> Mean blue</b>	<b>Aktivitas antioksidan (mM RE)</b>
Blanko	253,328	-	-
Replikasi 1	89,681	163,647	8,368
Replikasi 2	89,205	164,123	8,435
Replikasi 3	88,969	164,359	8,469
Replikasi 4	89,527	163,801	8,390
Replikasi 5	88,826	164,502	8,489
Replikasi 6	86,570	166,758	8,816
<b>Jumlah</b>			8,495
<b>SD (%)</b>			0,164
<b>RSD (%)</b>			1,932

**LAMPIRAN F. AKURASI****F.1. Massa Teoritis**

<b>Hasil Presisi (mM)</b>	<b>Massa Hasil Presisi (mg)<sup>a</sup></b>	<b>Adisi (%)</b>	<b>Massa Adisi (mg)<sup>b</sup></b>	<b>Massa Teoritis (mg)<sup>c</sup></b>
		30	15,715	68,097
8,580	52,383	45	23,572	75,955
		60	31,430	83,812

a. Massa hasil presisi =  $(8,580 \times 610,52 \times 10)/1000 = 52,383$  mg

b. Perhitungan standar adisi

Adisi 30% =  $30\% \times 52,383$  mg = 15,715 mgAdisi 45% =  $45\% \times 52,383$  mg = 23,572 mgAdisi 60% =  $60\% \times 52,383$  mg = 31,430 mg

## c. Massa teoritis

$$\text{Adisi 30\%} = 52,383 + 15,715 = 68,097 \text{ mg}$$

$$\text{Adisi 45\%} = 52,383 + 23,572 = 75,955 \text{ mg}$$

$$\text{Adisi 60\%} = 52,383 + 31,430 = 83,812 \text{ mg}$$

## F.2. Massa Percobaan

Adisi (%)	Blanko	Mean blue	$\Delta$ mean blue	Hasil (dalam log)	Antilog (mM)	Massa Percobaan (mg)
30%	252,323	69,950	182,373	1,054	11,312	69,064
		70,555	181,768	1,049	11,198	68,367
		69,881	182,442	1,054	11,325	69,143
		64,160	188,163	1,096	12,464	76,095
45%	252,323	65,402	186,921	1,087	12,207	74,529
		65,949	186,374	1,083	12,096	73,849
		58,441	193,882	1,137	13,717	83,743
60%	252,323	59,314	193,009	1,131	13,518	82,528
		59,383	192,94	1,130	13,502	82,433

## F.3. % recovery

Adisi (%)	Massa Teoritis (mg)	Massa Percobaan (mg)	% recovery	Rata-rata (%)	SD (%)	RSD (%)
30%	68,097	69,064	101,419	101,117	0,627	0,620
		68,367	100,396			
		69,143	101,536			
		76,095	100,185			
45%	75,955	74,529	98,123	98,512	1,516	1,539
		73,849	97,228			
		83,743	99,918			
60%	83,812	82,528	98,468	98,913	0,872	0,881
		82,433	98,354			
Rata-rata				99,514		

**LAMPIRAN G. INTERFERENSI****G.1 Tabel Interferensi Sukrosa terhadap Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan**

Bahan	Perbandingan	Mean <i>blue</i>	$\Delta$ Mean <i>blue</i>	Selisih	Interferensi <sup>a</sup> (%)	SD (%)	RSD (%)
Blanko	-	253,225	-	-	-	-	-
Rutin	-	164,705	88,520	-	-	-	-
Rutin : Sukrosa	1:1	160,247	91,980	4,335	4,897	0,820	0,883
		160,247	92,978				
		159,619	93,606				
Rutin : Sukrosa	1:10	159,093	94,132	6,866	7,756	1,448	1,518
		158,171	95,054				
		156,254	96,971				
Rutin : Sukrosa	1:100	153,777	99,448	11,171	12,620	0,749	0,752
		154,131	99,094				
		152,693	100,532				

**G.2 Tabel Interferensi Amilum terhadap Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan**

Bahan	Perbandingan	Mean <i>blue</i>	$\Delta$ Mean <i>blue</i>	Selisih	Interferensi <sup>a</sup> (%)	SD (%)	RSD (%)
Blanko	-	254,333	-	-	-	-	-
Rutin	-	163,983	90,350	-	-	-	-
Rutin : Amilum	1:1	166,319	88,014	3,229	3,574	0,780	0,895
		167,760	86,573				
		167,557	86,776				
Rutin : Amilum	1:10	158,545	95,778	5,333	5,903	0,295	0,308
		158,983	95,350				
		158,422	95,911				
Rutin : Amilum	1:100	153,839	100,494	10,394	11,642	1,239	1,229
		154,983	99,649				
		152,244	102,089				



<sup>a</sup>Perhitungan % interferensi =  $[(\text{Selisih } \Delta \text{ mean blue rutin dengan sukrosa/amilum}) / \Delta \text{ mean blue rutin}] \times 100\%$

## LAMPIRAN H. STABILITAS

### H.1 Tabel Stabilitas Sensor CUPRAC pada Suhu Kamar (25°C)

Waktu (menit)	Mean blue			Rata-rata	SD (%)	RSD (%)
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3			
0	127,643	128,734	127,549	127,975	0,659	0,515
30	125,226	124,027	125,845	125,033	0,924	0,739
60	116,030	115,422	115,421	115,624	0,351	0,304
90	111,105	111,686	110,761	111,184	0,468	0,421
120	100,916	99,082	102,297	100,765	1,613	1,601
150	95,651	95,468	96,651	95,923	0,637	0,664

Penurunan respon 15% = 15% x mean blue awal

= 15% x 127,975

= 19,196

Waktu pakai = respon mean blue awal – penurunan respon 15%

= 127,975 – 19,196

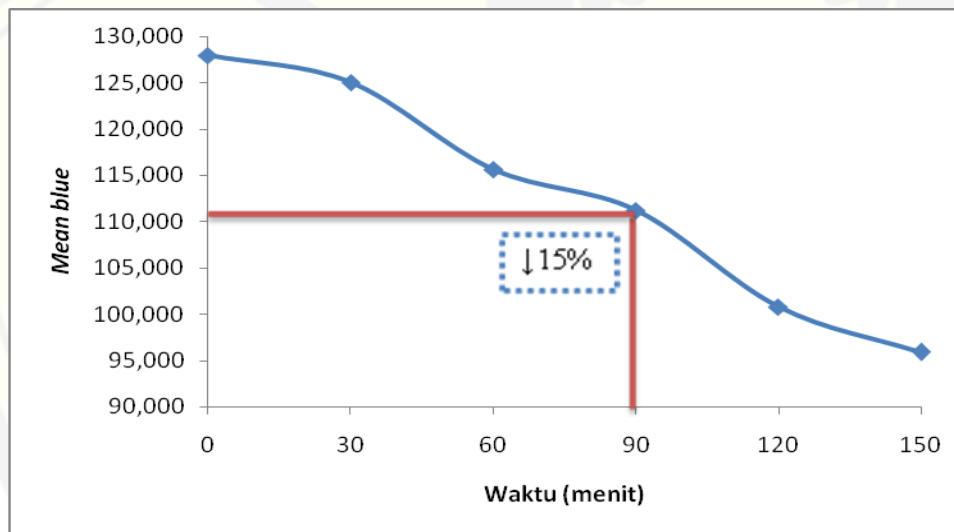
= 108,779 (waktu pakai menit ke-90)

### H.2 Tabel Stabilitas Sensor CUPRAC pada Lemari Es (4°C)

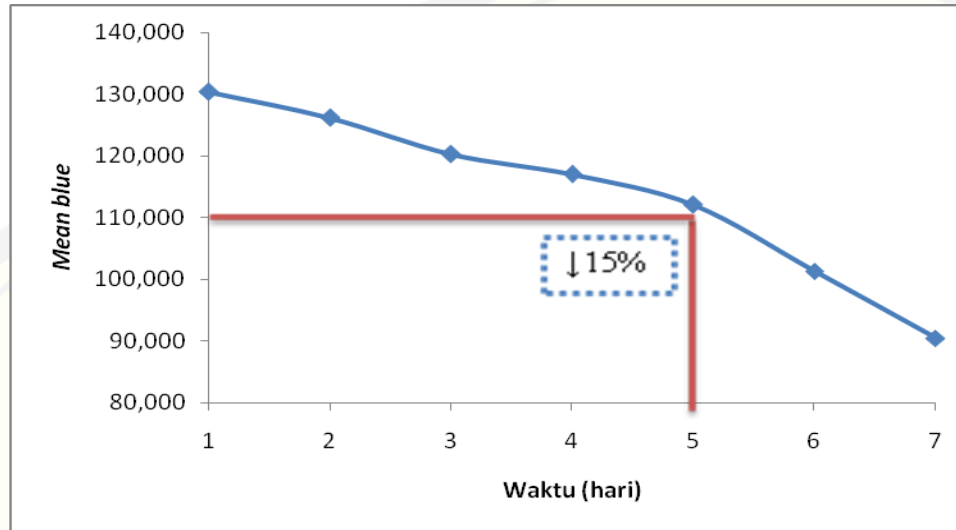
Waktu (hari)	Mean blue			Rata-rata	SD (%)	RSD (%)
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3			
1	130,760	129,921	130,337	130,339	0,420	0,332
2	125,695	126,968	125,883	126,182	0,687	0,545
3	121,921	119,986	119,009	120,305	1,482	1,232
4	117,305	116,980	116,692	116,992	0,307	0,262
5	112,379	111,554	112,174	112,032	0,435	0,388
6	100,561	100,603	102,885	101,350	1,330	1,312
7	91,317	90,783	89,239	90,446	1,079	1,193

$$\begin{aligned}\text{Penurunan respon 15\%} &= 15\% \times \text{mean blue awal} \\ &= 15\% \times 130,339 \\ &= 19,551 \\ \text{Waktu pakai} &= \text{respon mean blue awal} - \text{penurunan respon 15\%} \\ &= 130,339 - 19,551 \\ &= 110,788 \text{ (waktu pakai hari ke-5)}\end{aligned}$$

### H.3 Kurva Stabilitas Suhu Kamar (25°C)









#### H.4 Kurva Stabilitas Suhu Lemari Es (4°C)









#### LAMPIRAN I. APLIKASI SENSOR ANTIOKSIDAN

##### I.1 Aplikasi Sensor CUPRAC pada Sampel dibandingkan dengan Metode Spektrofotometer







###### a. Sampel Kunyit 2% b/v

Replikasi	Blanko	Mean blue	Sampel	Mean blue	$\Delta$ mean blue	Sensor CUPRAC (mM RE)	Spektrofotometer (mM RE)	Sig.
1		252,272		84,318	167,954	8,264	8,577	0,063
2		253,678		85,061	168,617	8,350	8,699	
3		252,782		85,766	167,016	8,144	8,685	







## b. Sampel Teh Hijau 2% b/v

Replikasi	Blanko	Mean blue	Sampel	Mean blue	$\Delta$ mean blue	Sensor CUPRAC (mM RE)	Spektrofotometer (mM RE)	Sig.
1		254,035		97,931	156,104	6,916	6,788	0,866
2		253,121		98,508	154,613	6,854	6,869	
3		254,393		99,557	154,836	6,743	6,821	







## c. Sampel Jambu Merah 2% b/v

Replikasi	Blanko	Mean blue	Sampel	Mean blue	$\Delta$ mean blue	Sensor CUPRAC (mM RE)	Spektrofotometer (mM RE)	Sig.
1		253,003		119,391	133,612	5,501	5,314	0,077
2		253,197		116,780	136,417	5,764	5,273	
3		252,825		118,392	134,433	5,577	5,421	

## d. Sampel Jambu Putih 2% b/v

Replikasi	Blanko	Mean blue	Sampel	Mean blue	$\Delta$ mean blue	Sensor CUPRAC (mM RE)	Spektrofotometer (mM RE)	Sig.
1		253,973		115,684	138,289	5,291	5,860	0,089
2		254,260		110,827	143,433	5,731	5,893	
3		254,196		111,255	142,941	5,688	6,042	

## e. Sampel Teh Hitam 2%

Replikasi	Blanko	Mean blue	Sampel	Mean blue	$\Delta$ mean blue	Sensor CUPRAC (mM RE)	Spektrofotometer (mM RE)	Sig.
1		252,964		114,281	138,683	5,323	5,550	0,078
2		253,546		112,936	137,610	5,485	5,590	
3		253,210		113,602	141,608	5,400	5,496	

- I.2 Analisis Statistik Sensor CUPRAC pada Sampel dibandingkan dengan Metode Spektrofotometer Menggunakan Uji T Berpasangan**
- a. Sampel Kunyit 2% b/v**

## Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	K_SENSOR - K_SPEKTRO	-.271333	.123929	.071550	-.579189	.036523	-3.792	2	.063

**b. Sampel Teh Hijau 2% b/v**

**Paired Samples Test**

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	GT_SENSOR - GT_SPEKTRO	.011667	.105557	.060944	-.250552	.273885	.191	2	.866

**c. Sampel Jambu Merah 2% b/v**

**Paired Samples Test**

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	JM_SENSOR - JM_SPEKTRO	-.322333	.164512	.094981	-.731005	.086338	-3.394	2	.077

**d. Sampel Jambu Putih 2% b/v**

**Paired Samples Test**

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	JP_SENSOR - JP_SPEKTRO	-.368333	.203559	.117525	-.874002	.137336	-3.134	2	.089

**e. Sampel Teh Hitam 2% b/v**

**Paired Samples Test**

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	BT_SENSOR - BT_SPEKTRO	-.142667	.073173	.042247	-.324439	.039106	-3.377	2	.078