



**PENGEMBANGAN SENSOR ANTIOKSIDAN  
BERBASIS KERTAS ZONA MIKRO (*PAPER MICROZONE*)  
DENGAN IMOBILISASI DPPH (2,2-DIFENIL-1-  
PIKRILHIDRAZIL) PADA SAMPEL EKSTRAK TANAMAN**

**SKRIPSI**

Oleh:

**Muhammad Fantoni**

**NIM 152210101055**

**BAGIAN BIOLOGI FARMASI**

**FAKULTAS FARMASI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2019**



**PENGEMBANGAN SENSOR ANTIOKSIDAN  
BERBASIS KERTAS ZONA MIKRO (*PAPER MICROZONE*)  
DENGAN IMOBILISASI DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL)  
PADA SAMPEL EKSTRAK TANAMAN**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi  
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh:

**Muhammad Fantoni**

**NIM 152210101055**

**BAGIAN BIOLOGI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2019**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang Maha segala-galanya;
2. Orang tua saya Bapak Sunyoto dan Ibu Wahyuni yang tercinta, kuhaturkan terima kasih banyak yang tak terhingga atas doa, dukungan pengorbanan, dan kasih sayang yang tiada henti untuk pencapaian keberhasilan kepada penulis;
3. Kakak-kakakku, saudaraku, dan kerabat dekat yang telah memberikan kasih sayang, motivasi, dan inspirasi untuk segera menyelesaikan studi ini;
4. Guru-guruku yang telah mengajarkan saya di SDN 2 LELATENG, SMPN 2 NEGARA, SMAN 1 NEGARA, serta Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember. Terima kasih atas ilmu dan didikan yang telah diberikan kepada penulis;
5. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**MOTO**

*Dreams never hurt anybody if he keeps working right behind the dream to make  
as much of it come real as he can*

(F. W. Woolworth)

Cobalah untuk tidak menjadi orang sukses, melainkan mencoba menjadi orang  
yang berharga

(Albert Einstein)

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Fantoni

NIM : 152210101055

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengembangan Sensor Antioksidan Berbasis Kertas Zona Mikro (Paper Microzone) Dengan Imobilisasi DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) Pada Sampel Ekstrak Tanaman” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, 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 dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 18 Juli 2019

Yang menyatakan,

Muhammad Fantoni

NIM 152210101055

**SKRIPSI**

**PENGEMBANGAN SENSOR ANTIOKSIDAN  
BERBASIS KERTAS ZONA MIKRO (*PAPER MICROZONE*)  
DENGAN IMOBILISASI DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL)  
PADA SAMPEL EKSTRAK TANAMAN**

Oleh:

Muhammad Fantoni

NIM 152210101055

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Prof. Drs. Bambang Kuswandi., M.Sc., Ph.D.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Pengembangan Sensor Antioksidan Berbasis Kertas Zona Mikro (*Paper Microzone*) Dengan Imobilisasi DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) Pada Sampel Ekstrak Tanaman” karya Muhammad Fantoni telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Selasa, 18 Juli 2019

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

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

NIP.198407122008122002

Prof. Drs. Bambang Kuswandi., M.Sc., Ph.D.

NIP.196902011994031002

Tim Penguji

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

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

NIP.1976041420022122001

Dewi Dianasari, S.Farm., M.Farm., Apt.

NIP.1987120820140422002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

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

NIP.1976041420022122001

## RINGKASAN

**Pengembangan Sensor Antioksidan Berbasis Kertas Zona Mikro (*Paper Microzone*) Dengan Imobilisasi DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) Pada Sampel Ekstrak Tanaman:** Muhammad Fantoni: 152210101055; 2015; 55 Halaman; Fakultas Farmasi, Universitas Jember

Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang memiliki satu elektron tidak berpasangan. Elektron yang tidak berpasangan tersebut memiliki kecenderungan untuk membentuk pasangan dengan menarik elektron dari senyawa lain, sehingga terbentuk radikal baru yang sangat reaktif (Halliwell dan Gutteridge, 2015). Antioksidan adalah molekul yang dapat berinteraksi dan menghambat *inisiasi* atau *propagasi* reaksi oksidasi berantai yang dihasilkan oleh radikal bebas reaktif sebelum molekul vital rusak (Ismail dkk., 2004). Sebagai upaya dalam pencarian senyawa antioksidan alami, maka perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada tanaman yang berkhasiat obat. Pendekatan lain yang dikembangkan untuk menentukan aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan sensor kimia. Sensor ini menarik karena penanganannya yang sederhana dan biaya rendah. Beberapa keuntungan dari sensor ini adalah pembuatannya yang mudah, preparasi sampel minimal yang diperlukan, selektivitas, sensitivitas, reproduktifitas, biaya relatif rendah, waktu respons yang cepat, dan penyimpanan yang mudah (Gomes dan Rebelo, 2003).

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan sensor antioksidan berbasis imobilisasi DPPH pada lempeng kertas zona mikro (*micro paper zone*) berupa kertas *Whattman No.1* yang dapat menjadi salah satu metode alternatif deteksi kandungan antioksidan dari sampel ekstrak tanaman yang diharapkan aplikasinya lebih efektif dan efisien dibandingkan dengan menggunakan metode yang umum digunakan salah satunya spektrofotometri UV-Vis. Optimasi dilakukan untuk menentukan kondisi optimal pada sensor antioksidan berbasis kertas. Berdasarkan hasil optimasi yang telah dilakukan, didapatkan volume reagen yang diimobilisasikan sebesar 3  $\mu\text{L}$  pada zona deteksi dan konsentrasi reagen DPPH yang digunakan 5 mM.

Karakteristik sensor antioksidan berbasis kertas terhadap standar asam galat meliputi: waktu respon yang digunakan untuk analisis pada menit ke-12, daerah linier terletak pada rentang konsentrasi 0,05 mM sampai 0,5 mM dengan koefisien korelasi ( $r$ ) 0,9895. Limit deteksi yang diperoleh sebesar 0,0349 mM GAE dan limit kuantitasi sebesar 0,1164 mM GAE. Penentuan presisi dilakukan dengan menghitung standar deviasi relative (RSD) yang didapatkan sebesar kurang dari 2%. Persen *recovery* aktivitas antioksidan yang memenuhi rentang, yaitu pada rentang 97-103% dan simpangan *recovery* yang diperoleh kurang dari 2%. Sensor antioksidan berbasis kertas ini diketahui stabil selama 3 hari ketika disimpan dalam lemari es dengan suhu 2-4°C. Sensor ini dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan pada sampel ekstrak metanol daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* (JB)), daun jambu biji merah (*Psidium guajava* (JM)), daun jambu biji putih (*Psidium guajava* (JP)), daun meniran (*Phyllanthus niruri* L. (M)), dan daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) yang diperoleh dari Materia Medika Batu. Hasil pengukuran tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ketika dibandingkan dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengembangan Sensor Antioksidan Berbasis Kertas Zona Mikro (*Paper Microzone*) Dengan Imobilisasi DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) Pada Sampel Ekstrak Tanaman”. Skripsi ini disusun untuk dapat memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Ibu Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Farm., Apt selaku dosen pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penyelesaian penulisan skripsi ini;
3. Prof. Drs. Bapak Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D selaku dosen pembimbing anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penyelesaian penulisan skripsi ini;
4. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt selaku dosen penguji I yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian untuk menguji sampai terselesaikannya skripsi ini;
5. Ibu Dewi Dianasari, S.Farm., M.Farm., Apt selaku dosen penguji II yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian untuk menguji sampai terselesaikannya skripsi ini;
6. Bapak Moch. Amrun Hidayat, S.Si., Apt., M.Farm selaku ketua tim proyek sensor yang telah memberikan bantuan berupa bahan, alat, serta bimbingan-bimbingan dengan segala perhatian hingga terselesaikan skripsi ini;
7. Ibu Lidya Ameliana, S.Si., Apt., M.Farm selaku dosen pembimbing akademik yang selalu memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis selama masa perkuliahan;

8. Ibu Widi dan saudari Parka selaku laboran di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi yang telah membantu segala urusan penulis di laboratorium Biologi;
9. Ibu Wayan dan Ibu Hani selaku laboran di Laboratorium Kimia Fakultas Farmasi yang telah membantu segala urusan penulis di laboratorium Kimia;
10. Orang tua saya Bapak Sunyoto dan Ibu Wahyuni yang tercinta, kuhaturkan terima kasih banyak yang tak terhingga atas doa, dukungan pengorbanan, dan kasih sayang yang tiada henti untuk pencapaian keberhasilan kepada penulis;
11. Teman-teman seperjuangan di Fakultas Farmasi Universitas Jember, khususnya teman Libitum angkatan 2015 yang telah memberikan pengalaman hidup yang sangat berharga bagi penulis selama masa perkuliahan;
12. Keluarga besar MPA PRING KUNING yang telah memberikan cerita, warna, dan pengalaman hidup yang sangat besar dan berharga bagi penulis. Pring Kuning Angkatan X (Carrier, Pasang, Gudhel, Poker, Biteng, Seger, Ceret, Nesting, Kayu, Tuter, Webing, Parut dan Kram) yang sudah merasakan perjuangan, rasa persaudaraan, dan penulis sayang kalian semua;
13. Tim proyek sensor Pergiwati Dewi Rahayuningtiyas dan Husnatul Ayniah yang telah semangat berjuang, membantu, dan menyelesaikan proyek ini;
14. Teman dan sahabat dari masa sekolah saya Mita, Widya, Essa, Prisca, Lia, Marta, Dipa, Wangi, Winda, Kartini, Widia, Evita, dan Yusuf yang telah memberikan bantuan, dukungan serta motivasi kepada penulis;
15. Semua pihak yang telah membantu.

Jember, 09 Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>v</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>viii</b>
<b>PRAKATA</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xvii</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	<b>4</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	<b>4</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1 Tinjauan Tentang Radikal Bebas</b> .....	<b>5</b>
<b>2.2 Tinjauan Tentang Antioksidan</b> .....	<b>7</b>
<b>2.3 Tinjauan Tentang Senyawa yang Beraktivitas Sebagai Antioksidan</b> <b>8</b>	
2.3.1 Flavonoid .....	8
2.3.2 Tanin .....	9
2.3.3 Antosianin .....	9
<b>2.4 Tinjauan Tentang DPPH</b> .....	<b>10</b>
<b>2.5 Tinjauan Tentang Sensor Kimia</b> .....	<b>11</b>
<b>2.6 Tinjauan Tentang Teknik Imobilisasi</b> .....	<b>11</b>
2.6.1 Adsorpsi .....	11

2.6.2	Enkapsulasi .....	12
2.6.3	Pemerangkapan ( <i>Entrapment</i> ).....	12
2.6.4	Ikatan Kovalen .....	12
<b>2.7</b>	<b>Tinjauan tentang Karakteristik Sensor Kimia.....</b>	<b>12</b>
2.7.1	Linieritas .....	13
2.7.2	Batas Kuantitasi dan Batas Deteksi (LOQ dan LOD).....	13
2.7.3	Presisi .....	13
2.7.4	Akurasi .....	14
2.7.5	Waktu Respon dan Waktu Pakai.....	14
<b>BAB 3.</b>	<b>METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>15</b>
<b>3.1</b>	<b>Jenis Penelitian .....</b>	<b>15</b>
<b>3.2</b>	<b>Waktu dan Tempat Penelitian .....</b>	<b>15</b>
<b>3.3</b>	<b>Definisi Operasional .....</b>	<b>15</b>
<b>3.4</b>	<b>Diagram Alur Penelitian.....</b>	<b>16</b>
<b>3.5</b>	<b>Alat dan Bahan .....</b>	<b>16</b>
3.5.1	Alat.....	16
3.5.2	Bahan.....	16
<b>3.6</b>	<b>Prosedur Kerja .....</b>	<b>17</b>
3.6.1	Preparasi Larutan Induk Asam Galat .....	17
3.6.2	Preparasi Larutan Standard Asam Galat .....	17
3.6.3	Preparasi Sampel.....	17
3.6.4	Pembuatan Kurva Baku Asam Galat.....	17
3.6.5	Pembuatan Reagen DPPH.....	18
3.6.6	Pembuatan Sensor Antioksidan Berbasis Kertas .....	18
3.6.7	Prosedur Pengukuran Intensitas Warna .....	18
3.6.8	Optimasi Reagen DPPH.....	19
3.6.8.1	Optimasi Volume Zona Deteksi Pada Sensor.....	19
3.6.8.2	Optimasi Konsentrasi Reagen DPPH .....	19
3.6.9	Karakterisasi Sensor Kimia.....	19
3.6.9.1	Waktu Respon.....	19
3.6.9.2	Linieritas .....	20
3.6.9.3	Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi .....	20

3.6.9.4	Presisi.....	20
3.6.9.5	Akurasi.....	20
3.6.9.6	Waktu Pakai.....	21
<b>3.7</b>	<b>Aplikasi Sensor Pada Sampel.....</b>	<b>21</b>
<b>3.8</b>	<b>Perbandingan Hasil Sensor Dengan Spektrofotometri UV-VIS.....</b>	<b>21</b>
<b>BAB 4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>23</b>
<b>4.1</b>	<b>Fabrikasi Sensor Antioksidan Berbasis Kertas Zona Mikro.....</b>	<b>23</b>
<b>4.2</b>	<b>Optimasi Reagen DPPH.....</b>	<b>24</b>
4.2.1.	Optimasi Volume Reagen DPPH Pada Zona Deteksi.....	24
4.2.2.	Optimasi Konsentrasi Reagen DPPH.....	24
<b>4.3</b>	<b>Karakteristik Sensor Kimia.....</b>	<b>27</b>
4.3.1.	Waktu Respon.....	27
4.3.2.	Daerah Linier.....	28
4.3.3.	Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ).....	29
4.3.4.	Presisi.....	30
4.3.5.	Akurasi.....	31
4.3.6.	Waktu Pakai.....	32
<b>4.4</b>	<b>Aplikasi Sensor pada Sampel.....</b>	<b>33</b>
<b>4.5</b>	<b>Aplikasi Sensor pada Sampel Dibandingkan Dengan Spektrofotometri UV-VIS.....</b>	<b>34</b>
<b>BAB 5.</b>	<b>KESIMPULAN.....</b>	<b>37</b>
<b>5.1</b>	<b>Kesimpulan.....</b>	<b>37</b>
<b>5.2</b>	<b>Saran.....</b>	<b>38</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>39</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>		<b>42</b>

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Nomenklatur Dari Spesies Reaktif .....	6
Tabel 4.1 Optimasi Volume Reagen DPPH Pada Zona Deteksi.....	24
Tabel 4.2 Optimasi Sensitivitas Reagen DPPH .....	27
Tabel 4.3 Hasil Pengukuran Nilai <i>Mean Blue</i> Untuk Daerah Linier .....	28
Tabel 4.4 Hasil Pengukuran Nilai LOD dan LOQ.....	29
Tabel 4.5 Hasil Pengukuran Nilai Presisi Sampel Dalam mM GAE.....	30
Tabel 4.6 Hasil Pengukuran Nilai Akurasi Pada Sampel.....	31
Tabel 4.7 Waktu Pakai Sensor Antioksidan Berbasis Kertas Dalam Suhu Lemari Es (2-4°C).....	32
Tabel 4.8 Waktu Pakai Sensor Antioksidan Berbasis Kertas Dalam Suhu Ruang (25°C).....	33
Tabel 4.9 Data Aktivitas Antioksidan Sampel Dengan Sensor.....	34
Tabel 4.10 Data Kurva Kalibrasi Pada Spektrofotometri UV-Vis.....	35
Tabel 4.11 Data Aktivitas Antioksidan Sampel Dengan Spektrofotometri .....	36
Tabel 4.12 Perbandingan Hasil Analisis Metode Sensor Antioksidan Dan Metode Spektrofotometri UV-Vis.....	36

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
Gambar 2.1 Alur Mekanisme Kerja Antioksidan Terhadap Sel Tubuh.....	8
Gambar 2.2 Struktur Kimia DPPH .....	10
Gambar 3.1 Diagram Alur Penelitian.....	16
Gambar 3.2 Zona Deteksi Sensor Antioksidan Berbasis Kertas Zona Mikro.....	18
Gambar 4.1 Fabrikasi Sensor Antioksidan Berbasis Kertas Zona Mikro .....	23
Gambar 4.2 Kurva Optimasi Konsentrasi DPPH 2 mM (n=3) .....	25
Gambar 4.3 Kurva Optimasi Konsentrasi DPPH 4 mM (n=3) .....	26
Gambar 4.4 Kurva Optimasi Konsentrasi DPPH 5 mM (n=3) .....	26
Gambar 4.5 Kurva Waktu Respon .....	27
Gambar 4.6 Kurva Kalibrasi Linieritas Pada Sensor Antioksidan.....	29
Gambar 4.7 Kurva Kalibrasi Linieritas Pada Spektrofotometri UV-Vis .....	35

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
Lampiran 1 Linieritas Kurva Baku Asam Galat .....	42
Lampiran 2 LOD dan LOQ .....	45
Lampiran 3 Presisi.....	46
Lampiran 4 Akurasi.....	47
Lampiran 5 Pengukuran Sampel Dengan Sensor Antioksidan Berbasis Kertas ...	52
Lampiran 6 Pengukuran Sampel Dengan Spektrofotometri UV-Vis.....	53
Lampiran 7 Signifikansi Perbandingan Pengukuran Metode Sensor Antioksidan Berbasis Kertas Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis.....	54

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang memiliki satu elektron tidak berpasangan. Elektron yang tidak berpasangan tersebut memiliki kecenderungan untuk membentuk pasangan dengan menarik elektron dari senyawa lain, sehingga terbentuk radikal baru yang sangat reaktif (Halliwell dan Gutteridge, 2015). Sumber radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh kita sendiri (*endogen*) yang terbentuk sebagai sisa proses metabolisme protein, karbohidrat, dan lemak yang kita konsumsi. Radikal bebas dapat pula diperoleh luar tubuh (*eksogen*) yang berasal dari polusi udara, asap kendaraan, berbagai bahan kimia, makanan yang telah hangus (*carbonated*) dan sinar ultra violet (Sari, 2015). Radikal bebas sebagai penyebab dari beberapa penyakit tersebut akan merusak sel-sel tubuh, sehingga mendorong terjadinya pertumbuhan sel-sel tidak normal (kanker).

Antioksidan adalah molekul yang dapat berinteraksi dan menghambat *inisiasi* atau *propagasi* reaksi oksidasi berantai yang dihasilkan oleh radikal bebas reaktif sebelum molekul vital rusak (Ismail dkk., 2004). Antioksidan dapat menghambat reaktivitas radikal bebas melalui beberapa mekanisme termasuk donasi hidrogen, redaman radikal, penstabilan oksigen singlet, mendonorkan elektron untuk menstabilkan radikal bebas (Vaya dan Aviram, 2001; Pisoschi dan Negulescu, 2012). Antioksidan yang terdapat pada tanaman, menarik perhatian karena potensi dan efek terapi yang dimilikinya. Kandungan antioksidan pada tanaman bertindak sebagai peredaman radikal (*radical scavenger*) yang terdapat pada seluruh bagian tanaman berupa karotenoid, vitamin, flavonoid, dan fenol (Mandal dkk., 2009). Sebagai upaya dalam pencarian senyawa antioksidan alami, maka perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada tanaman yang berkhasiat obat.

Secara umum, terdapat beberapa metode uji kapasitas antioksidan yang sering digunakan, yaitu metode spektrofotometri dan metode kromatografi.

Metode spektrofotometri yang dapat digunakan dalam penetapan aktivitas antioksidan antara lain DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*), TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*), ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), dan TRAP (*Total Radical Antioxidant Potential*). Dari metode spektrofotometri di atas, metode DPPH yang banyak diaplikasikan karena metode ini merupakan metode yang sangat sederhana, mudah, dan cepat dilakukan, serta hanya memerlukan sedikit sampel (Molyneux, 2004). Namun, metode DPPH ini memiliki kelemahan pada penyimpanan larutan stok DPPH yang direkomendasikan pada suhu rendah, tetapi kemudian diketahui menjadi tidak stabil (Irivibulkovit dkk., 2018).

Selain metode spektrofotometri, ada metode autografi yang diketahui tidak hanya mendeteksi aktivitas biologis dalam campuran kompleks total, tetapi juga menggabungkan pemisahan kromatografi dan penentuan aktivitas biologis secara *in-situ*. Sejumlah teknik KLT telah dikembangkan dan berhasil diterapkan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif antioksidan. Dalam skrining antioksidan, uji KLT autografi adalah metode pilihan karena beberapa keuntungan yang mencakup fleksibilitas, kesederhanaan dan sensitifitas tinggi (Wang dkk., 2012). Tetapi kelemahan metode ini muncul pada penggunaan ekstrak alami, yaitu campuran kompleks dengan warna gelap akan menyulitkan pengukuran absorbansi secara akurat (Micheloni dkk., 2018). Selama beberapa dekade terakhir, metode HPLC *online* juga telah banyak diterapkan untuk identifikasi secara cepat komponen aktif dalam ekstrak tanaman dengan sistem pasca kolom DPPH. Namun, kelemahan dari metode ini adalah banyak senyawa dengan konsentrasi yang lebih rendah tidak dapat dideteksi, karena resolusi kromatografi hilang setelah reaksi pasca kolom dengan radikal DPPH (Wang dkk., 2018). Selain itu, analisis dengan metode HPLC memerlukan fase gerak dengan biaya yang mahal (Zaitunah dan Hut, 2002).

Pendekatan lain yang dikembangkan untuk menentukan aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan sensor kimia. 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 diubah menjadi sinyal listrik yang proporsional dengan konsentrasi analit tersebut (Kuswandi, 2010). Sensor ini menarik karena penanganannya yang sederhana dan biaya rendah. Beberapa keuntungan dari sensor ini adalah pembuatannya yang mudah, preparasi sampel minimal yang diperlukan, selektivitas, sensitivitas, reproduktifitas, biaya relatif rendah, waktu respons yang cepat, dan penyimpanan yang mudah (Gomes dan Rebelo, 2003).

Sejauh ini banyak peneliti yang telah mengembangkan sensor antioksidan berbasis imobilisasi DPPH dalam beragam matriks pendukung (*support matrix*), diantaranya lempeng KLT (Huang dkk., 2014), sumur mikro (*microwell plate*) (Hidayat dkk., 2017), basis Blister (Hidayat dkk., 2018), dan basis kertas laminasi (*paper-based lamination*) (Irivibulkovit dkk., 2018). Metode yang dikembangkan pada penelitian ini menggunakan kertas *Whattman No.1* karena selain murah, fabrikasinya relatif sederhana dan mudah. Selain itu, perubahan warna dapat dengan mudah dideteksi dengan mata telanjang karena media kertas yang digunakan untuk tes spot berwarna putih, sehingga memberikan kontras yang kuat dengan tes warna, selain itu juga memiliki rasio permukaan volume tinggi yang memfasilitasi penguapan solusi lebih cepat dan menghasilkan analit terkonsentrasi (Carrilho dkk., 2009).

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan sensor antioksidan berbasis imobilisasi DPPH pada lempeng kertas zona mikro (*micro paper zone*) berupa kertas *Whattman No.1* yang dapat menjadi salah satu metode alternatif deteksi kandungan antioksidan dari sampel ekstrak tanaman yang diharapkan aplikasinya lebih efektif dan efisien dibandingkan dengan menggunakan metode yang umum digunakan salah satunya spektrofotometri UV-Vis. Pada penelitian ini digunakan beberapa sampel ekstrak tanaman obat dalam jumlah minim yang diperoleh dari *Materia Medica Batu* berupa serbuk ekstrak.

## 1.2 Rumusan Masalah

- a. Bagaimana kondisi optimal (konsentrasi dan volume reagen) sensor kimia optik aktivitas antioksidan dengan reagen DPPH pada kertas zona mikro?
- b. Bagaimana karakterisasi analisis (waktu respon, linieritas, batas deteksi, batas kuantitasi, presisi, akurasi, dan waktu pakai) terhadap senyawa asam galat?
- c. Bagaimanakah aplikasi sensor berbasis kertas pada penentuan antioksidan ekstrak tanaman obat dibandingkan dengan metode spektrofotometri?

## 1.3 Tujuan Penelitian

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

- a. Menentukan kondisi optimal sensor antioksidan (konsentrasi dan volume reagen) dalam penentuan antioksidan terhadap perubahan warna pada sensor antioksidan berbasis kertas zona mikro.
- b. Menentukan karakteristik analisis (waktu respons, linieritas, batas deteksi, batas deteksi, presisi, akurasi dan waktu pakai) sensor untuk deteksi antioksidan pada ekstrak tanaman obat.
- c. Membandingkan hasil penentuan sensor berbasis kertas untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak tanaman obat 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 yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Elektron yang tidak berpasangan adalah elektron yang menempati orbital atom atau molekul dengan sendiri. Contoh radikal bebas yang paling sederhana adalah atom hidrogen [H•]. Sebuah atom hidrogen hanya memiliki satu elektron, sehingga diharuskan untuk berpasangan. Kehadiran satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan biasanya menyebabkan radikal bebas tertarik ke medan magnet (yaitu menjadi paramagnetik), dan terkadang membuatnya sangat reaktif, meskipun reaktivitas senyawa radikal yang terbentuk menjadi lebih bervariasi (Halliwell dan Gutteridge, 2015).

Radikal dapat dibentuk dengan menghilangkan satu elektron dari senyawa non-radikal, meninggalkan elektron yang tidak berpasangan dan muatan positif  $X - e^- \rightarrow X \cdot +$  (kation radikal) atau dengan mendapatkan satu elektron tunggal  $Y + e^- \rightarrow Y \cdot -$  (anion radikal). Fisi homolitik merupakan suatu proses radikal yang terbentuk jika ikatan kovalen dilepas untuk meninggalkan satu elektron dari pasangan ikatan pada setiap atom. Energi yang diperlukan untuk melepas suatu ikatan kovalen dapat berasal dari panas, sinar ultraviolet, atau radiasi pengion (Halliwell dan Gutteridge, 2015).

Namun, sebagian besar molekul biologis adalah senyawa non-radikal. Ketika radikal bebas bereaksi dengan senyawa non-radikal yang dapat membentuk senyawa radikal baru, dan reaksi berantai yang dapat terjadi seperti berikut:

- a. Radikal ( $X\cdot$ ) dapat ditambahkan ke dalam molekul lain. *Adduct* (produk) yang terbentuk harus memiliki elektron tidak berpasangan  $X\cdot + Y \rightarrow [X-Y]\cdot$ . Contoh: penambahan  $OH\cdot$  pada posisi 8 dalam struktur cincin guanin DNA dengan menggunakan produk awal radikal.

- b. Suatu radikal dapat menjadi agen pereduksi dengan cara menyumbangkan satu elektron ke senyawa non-radikal. Kemudian, gugus penerima akan memiliki elektron tidak berpasangan  $X\cdot + Y \rightarrow X^+ + Y\cdot^-$
- Contoh: radikal karbondioksida,  $CO\cdot^{-2}$ , mengurangi  $Cu^+$  menjadi  $Cu$   $CO\cdot^{-2} + Cu^+ \rightarrow CO_2 + Cu$
- c. Radikal merupakan suatu agen pengoksidasi, yang mengambil satu elektron dari senyawa non-radikal. Senyawa non-radikal harus memiliki elektron tidak berpasangan yang akan ditinggalkan.
- Contoh: radikal hidroksil mengoksidasi obat sedatif promethazine (PR) menjadi kation radikal  $PR + OH\cdot \rightarrow PR\cdot^+ + OH^-$
- d. Suatu radikal memiliki inti atom hidrogen dari ikatan C-H (atau N-H). Karena  $H\cdot$  hanya memiliki satu elektron, maka elektron yang tidak berpasangan harus ditinggalkan pada karbon (atau nitrogen).
- Contoh:  $OH\cdot$  inti  $H\cdot$  dari sisi rantai hidrokarbon dari residu asam lemak

Tabel 2.1 Nomenklatur Dari Spesies Reaktif (Halliwell dan Gutteridge, 2015)

Radikal Bebas	Non-radikal
<b>Spesies Oksigen Reaktif (ROS)</b>	<b>Spesies Oksigen Reaktif (ROS)</b>
Superoksida, $O_2\cdot^-$	Hidrogen peroksida, $H_2O_2$
Hidroksil, $OH\cdot$	Asam Hipobromo, $HOBr^{a,b}$
Hidroperoksil, $HO_2\cdot$	Singlet oxygen, $O_2^1\Delta_g$
Karbonat, $CO_3\cdot^-$	Peroksida Organik, $ROOH$
Karbon Dioksida, $CO_2\cdot^-$	Peroksinitrit, $ONOO^-^c$
Peroksil, $RO_2\cdot$	Peroksinitrat, $O_2NOO^-^c$
Alkoksil, $RO\cdot$	Asam Peroksinitrat, $ONOOH^c$
Singlet $O_2^1\Sigma_g^+$	Asam Peroksinitrit, $O_2NOOH^c$
	Nitroperoksikarbonat, $ONOOCO_2^-$
<b>Spesies Nitrogen Reaktif (RNS)</b>	<b>Spesies Nitrogen Reaktif (RNS)</b>
Nitrit Oksida, $NO\cdot$	Asam Nitrat, $HNO_2$
Nitrogen dioksida, $NO_2\cdot$	Dinitrogen tetraoksida, $N_2O_4$
Radikal Nitrate, $NO_3\cdot$	Dinitrogen trioksida, $N_2O_3$
	Peroksinitrit, $ONOO^-^c$
	Peroksinitrat, $O_2NOO^-^c$
	Asam Peroksinitrat, $ONOOH^c$
	Asam Peroksinitrit, $O_2NOOH^c$
	Alkil peroksinitrit, $ROONO$
	Alkil peroksinitrat, $RO_2ONO$
	Nitril klorida, $NO_2Cl$

## 2.2 Tinjauan Tentang Antioksidan

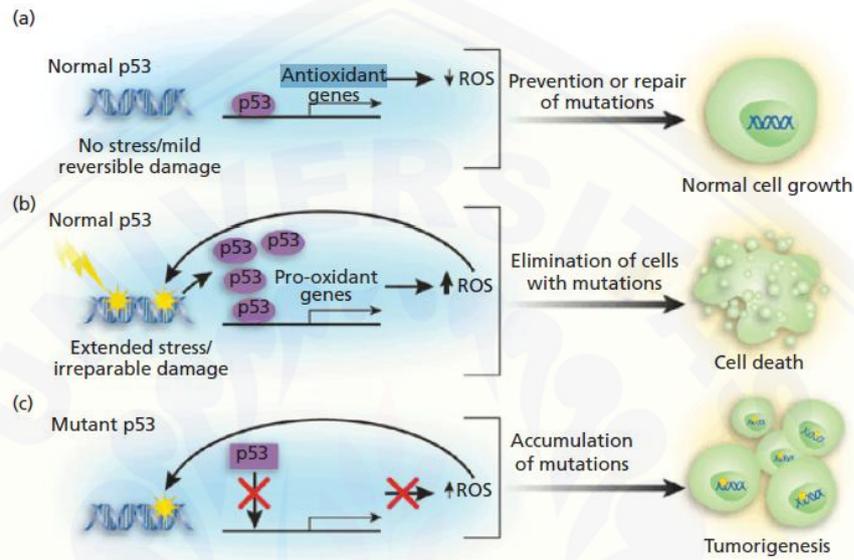
Antioksidan adalah sekelompok zat yang pada konsentrasi rendah secara signifikan dapat menghambat atau menunda proses oksidatif, dimana zat tersebut dapat teroksidasi dengan sendirinya. Dua prinsip mekanisme kerja untuk antioksidan adalah mekanisme pelepasan rantai, dimana antioksidan utama akan menyumbangkan elektron ke radikal bebas yang ada dalam sistem dan mekanisme penghilangan inisiator ROS/RNS (antioksidan sekunder) dengan meredamkan katalis inisiasi rantai (Vaya dan Aviram, 2001).

Antioksidan alami memiliki beberapa perbedaan, dapat dilihat dari berat molekul, komposisi, sifat fisik, dan kimianya serta dalam mekanisme dan tempat kerjanya. Antioksidan dapat dibagi ke dalam kategori berikut:

1. Enzim, seperti superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathione peroksidase dapat mengurangi pembentukan spesies oksigen reaktif dengan melepas potensial oksidan atau dengan mengubah ROS/RNS menjadi senyawa yang relatif stabil. SOD mengkatalisis transformasi radikal superoksida menjadi hidrogen peroksida, yang kemudian dapat ditransformasikan lebih lanjut oleh enzim katalase menjadi hidrogen dan oksigen molekuler.
2. Protein Berat Molekul Tinggi, seperti plasma berupa albumin, seruloplasmin, transferrin dan haptoglobin, berikatan redoks dengan logam aktif dan membatasi produksi radikal bebas yang dikatalisis oleh logam.
3. Antioksidan Berat Molekul Rendah, dibagi menjadi antioksidan yang larut dalam lemak (tokoferol, karotenoid, kuinon, bilirubin dan beberapa polifenol) dan antioksidan yang larut dalam air (asam askorbat, asam urat dan beberapa polifenol) dengan mekanisme kerja sebagai penghambat kerusakan sel.

Interpretasi hasil yang diperoleh dari pengukuran aktivitas antioksidan suatu senyawa atau ekstrak tanaman harus dilakukan dengan hati-hati, karena efek antioksidan dari senyawa yang diuji sangat bervariasi dengan metode dan kondisi yang digunakan. Metode untuk menguji aktivitas antioksidan pada sampel ekstrak tanaman dapat dibagi menjadi dua kategori prinsip utama: 1) Menguji

kemampuan dalam menyumbangkan elektron (atau atom hidrogen) ke ROS tertentu atau ke akseptor elektron. 2) Menguji kemampuan dalam menghilangkan sumber inisiasi oksidatif, misalnya penghambatan enzim, pengkelat ion logam transisi dan penyerapan radiasi UV (Vaya dan Aviram, 2001).



Gambar 2.1 Alur Mekanisme Kerja Antioksidan Terhadap Sel Tubuh (Halliwell dan Gutteridge, 2015)

## 2.3 Tinjauan Tentang Senyawa yang Beraktivitas Sebagai Antioksidan

### 2.3.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa yang memiliki metabolit primer dan metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada jaringan tanaman (Rajalakshmi dan Narasimhan, 1985). Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia C6-C3-C6 (White dan Xing, 1951; Madhavi dkk., 1985; Maslarova, 2001). Struktur kimia dari flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin. Flavonoid sebagai senyawa antioksidan dapat mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya dalam mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Cuppert

dkk.,1954). Beberapa senyawa flavonoid seperti kuersetin, kaempferol, myricetin, apigenin, luteolin, vitexin dan isovitexin terdapat pada sereal, sayuran, buah dan produk olahannya dengan kandungan yang bervariasi serta sebagian besar memiliki sifat sebagai antioksidan (Redha, 2010).

### 2.3.2 Tanin

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat, yaitu sebagai astringen, antidiare, antibakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal (Desmiaty dkk., 2008). Tanin dibagi menjadi dua kelompok, yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin sebagai senyawa polifenol memiliki berat molekul yang sangat besar, yaitu lebih dari 1000 g/mol dan dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein. Struktur senyawa tanin terdiri dari cincin benzena (C<sub>6</sub>) yang berikatan dengan gugus hidroksil (-OH). Tanin memiliki peranan biologis yang besar karena fungsinya sebagai pengendap protein dan pengkelat logam (Noer dkk., 2018).

### 2.3.3 Antosianin

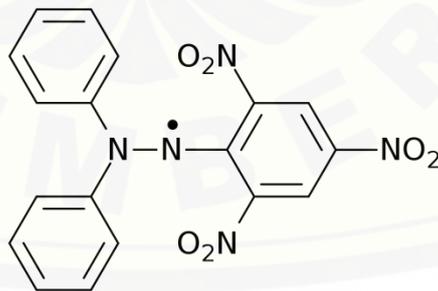
Antosianin merupakan senyawa golongan flavonoid berwarna yang bertanggung jawab untuk memberikan warna merah, biru, dan ungu pada buah, sayur, dan tanaman hias. Struktur utamanya ditandai dengan adanya dua cincin aromatik benzena (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>) yang dihubungkan dengan tiga atom karbon untuk dapat membentuk suatu cincin. Antosianin disusun dari sebuah aglikon (antosianidin) yang teresterefikasi dengan satu atau lebih gugus gula (glikon). Kebanyakan antosianin ditemukan dalam enam bentuk antosianidin, yaitu pelargonidin, sianidin, peonidin, delphinidin, petunidin, dan malvidin. Jenis pemilihan pelarut antosianin secara nyata dapat mempengaruhi warna yang diekspresikannya. Sifat antosianin yang hidrofilik dapat menjadi tolak ukur dalam pemilihan pelarut saat ekstraksi dengan menggunakan pelarut alkohol atau air. Pelarut alkohol menghasilkan warna antosianin yang lebih biru dibandingkan dengan pelarut air (Center IPB, 2012).

## 2.4 Tinjauan Tentang DPPH

DPPH adalah senyawa radikal yang stabil dan juga sangat berwarna, sehingga banyak digunakan dalam penelitian. Radikal sebagian besar digunakan dalam kimia polimer, dalam spektroskopi EPR, dan dalam evaluasi kemampuan antioksidan bahan kimia. Radikal DPPH tidak larut dalam pelarut non-polar, sedangkan dalam pelarut organik polar menunjukkan kelarutan yang signifikan. Dalam air, kelarutannya praktis pada suhu sekitar nol (Foti, 2015).

Reaksi radikal DPPH selektif terhadap senyawa radikal dengan mendonorkan atom Hidrogen di gugus reaksi yang berbeda. Sedangkan, radikal biasanya menyerang cincin fenil dan donor atom H yang bereaksi dengan atom N divalen. Ruang terbatas di sekitar atom N mencegah penambahan radikal yang tidak praktis di gugus tersebut. Donor atom H dapat mendekati atom N dan berikatan dengan menghasilkan pembentukan hidrazin DPPH – H (Foti, 2015).

$\lambda$  max dan koefisien dari DPPH tergantung pada solvent yang akan digunakan dengan nilai rata-rata adalah ca. 517 nm dan ca.  $11700 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Pengurangan radikal oleh transfer atom hidrogen dari donor H (antioksidan) dengan pembentukan hidrazin DPPH – H menyebabkan hilangnya perubahan warna larutan dari ungu ke kuning pucat. Reaksi yang dikenal dalam literatur sebagai uji DPPH dan digunakan untuk evaluasi kapasitas antioksidan ekstrak alami dari tanaman atau senyawa tunggal (kebanyakan fenol) (Foti, 2015).



Gambar 2.2 Struktur Kimia DPPH (Irvibulkovit dkk., 2018)

## 2.5 Tinjauan Tentang Sensor Kimia

Sensor kimia adalah suatu alat analisa berisi reagen kimia yang dapat bereaksi dengan analit tertentu dalam larutan atau gas, sehingga menghasilkan perubahan fisika-kimiawi yang dapat dirubah (*physicochemical transducer*) menjadi sinyal elektrik proporsional dengan konsentrasi dari analit tersebut. Sebuah sensor kimia yang ideal adalah sensor yang mampu berinteraksi dengan analit secara reversibel, sehingga sinyal sensor dapat dikontrol dengan mudah baik secara kinetik maupun termodinamik.

## 2.6 Tinjauan Tentang Teknik Imobilisasi

Imobilisasi merupakan suatu proses pengikatan molekul reagen pada bahan pendukung (*solid support material*), sehingga molekul reagen dapat tersebar di dalam fasa pendukung tersebut secara merata dan homogen. Imobilisasi reagen juga dapat didefinisikan sebagai pengikatan reagen pada fasa padat atau material pendukung secara merata, yang memungkinkan untuk terjadinya pertukaran dengan larutan sampel dimana terdapat analit untuk dideteksi. Secara garis besar, imobilisasi reagen dapat digolongkan menjadi dua jenis metode, yaitu metode fisika (penyerapan (*adsorpsi*), pemerangkapan (*entrapment*), pengkapsulan (*encapsulasi*), dan interaksi elektrostatik), dan metode kimia (pembentukan ikatan kovalen dan *cross-linking*).

### 2.6.1 Adsorpsi

Adsorpsi secara umum dibagi ke dalam dua golongan, yaitu adsorpsi fisik dan adsorpsi kimia. Pada adsorpsi fisik (fisisorpsi), ikatan yang terbentuk adalah ikatan van der Waals atau ikatan hidrogen, sehingga ikatan ini terbilang cukup lemah. Sedangkan pada adsorpsi kimia (kemisorpsi), ikatan yang terbentuk lebih kuat, karena pada proses ini melibatkan ikatan kovalen. Di banyak metode adsorpsi yang digunakan dalam sensor kimia, untuk mengimobilisasi reagen digunakan cara fisisorpsi atau adsorpsi fisik yang hanya melibatkan ikatan van der Waals atau ikatan hidrogen antara reagen dengan material pendukungnya.

### 2.6.2 Enkapsulasi

Salah satu teknik imobilisasi reagen secara fisika pada permukaan sensor adalah dengan teknik enkapsulasi atau sering pula disebut mikroenkapsulasi. Pada teknik ini menggunakan sebuah membran semipermeabel untuk memerangkap atau menjerat reagen kimia yang berada pada permukaan sensor. Teknik imobilisasi dengan enkapsulasi dapat dikategorikan cukup stabil terhadap perubahan temperatur, pH, kekuatan ion, dan komposisi kimia. Oleh karena itu, teknik imobilisasi ini banyak digunakan dalam pengembangan sensor kimia.

### 2.6.3 Pemerangkapan (*Entrapment*)

Dalam teknik ini, reagen dicampur dengan sebuah larutan monomer, yang kemudian mengalami polimerisasi untuk membentuk membran baik berupa gel maupun lapisan tipis film, sehingga reagen tersebut nantinya akan dapat terperangkap di dalamnya.

### 2.6.4 Ikatan Kovalen

Teknik imobilisasi secara ikatan kovalen melibatkan pembentukan ikatan kovalen antara molekul reagen dengan fasa pendukung. Ikatan antara reagen dengan fasa pendukung dalam teknik ini lebih kuat karena menggunakan metode imobilisasi secara kimia. Secara umum dalam proses imobilisasi, fasa pendukung merupakan satu elemen penting. Karenanya, kesesuaian fasa pendukung dengan reagen memberikan pengaruh yang sangat besar dalam proses imobilisasi. Proses imobilisasi tidak akan berhasil bila fasa pendukung tidak sesuai atau kompatibel dengan reagen.

## 2.7 Tinjauan tentang Karakteristik Sensor Kimia

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

### 2.7.1 Linieritas

Linieritas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linieritas yang dapat diterima. Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi  $r$  pada analisis regresi linier  $y = a + bx$ . Hubungan linier yang dicapai jika nilai  $b = 0$  dan  $r = +1$  atau  $-1$  bergantung pada arah garis (Harmita, 2004).

### 2.7.2 Batas Kuantitasi dan Batas Deteksi (LOQ dan LOD)

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi merupakan parameter pada analisis dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama. Batas deteksi dan kuantitasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi. Nilai pengukuran akan sama dengan nilai  $b$  pada persamaan garis linier  $y = a + bx$ , sedangkan simpangan baku blanko sama dengan simpangan baku residual ( $S_{y/x}$ ) (Harmita, 2004).

### 2.7.3 Presisi

Presisi (kesesuaian) adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Harmita, 2004). Presisi pada sensor kimia dapat dinyatakan sebagai kedekatan respon sensor terhadap respon lainnya untuk analit yang sama. Presisi sering pula didefinisikan sebagai kesesuaian dalam pengulangan pengukuran, sehingga dinyatakan sebagai deviasi dari *mean* atau rata-rata. Presisi dari respon sensor terhadap analit dapat dinyatakan dalam ukuran reproduisibilitas dari suatu set pengukuran sensor terhadap analit, sehingga dapat

diukur dengan parameter standar deviasi ( $s$ ), baik standar deviasi relatif (RSD) maupun koefisien variasi (CV) (Kuswandi, 2010).

#### 2.7.4 Akurasi

Akurasi (kecermatan) adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya secara teoritis. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Kecermatan hasil analisis sangat tergantung kepada sebaran galat sistematis di dalam keseluruhan tahapan analisis. Oleh karena itu, untuk mencapai kecermatan yang tinggi hanya dapat dilakukan dengan cara mengurangi galat sistematis tersebut, seperti menggunakan peralatan yang telah dikalibrasi, menggunakan pereaksi dan pelarut yang baik, pengontrolan suhu, dan pelaksanaannya yang cermat, taat asas sesuai prosedur (Harmita, 2004).

#### 2.7.5 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). Oleh karena itu, waktu tersebut dapat dinyatakan sebagai waktu pakai sensor. Dengan cara ini dapat ditentukan berapa lama dan berapa kali suatu sensor kimia dapat digunakan untuk pengukuran suatu analit (Kuswandi, 2010).

## BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian *eksperimental laboratories*

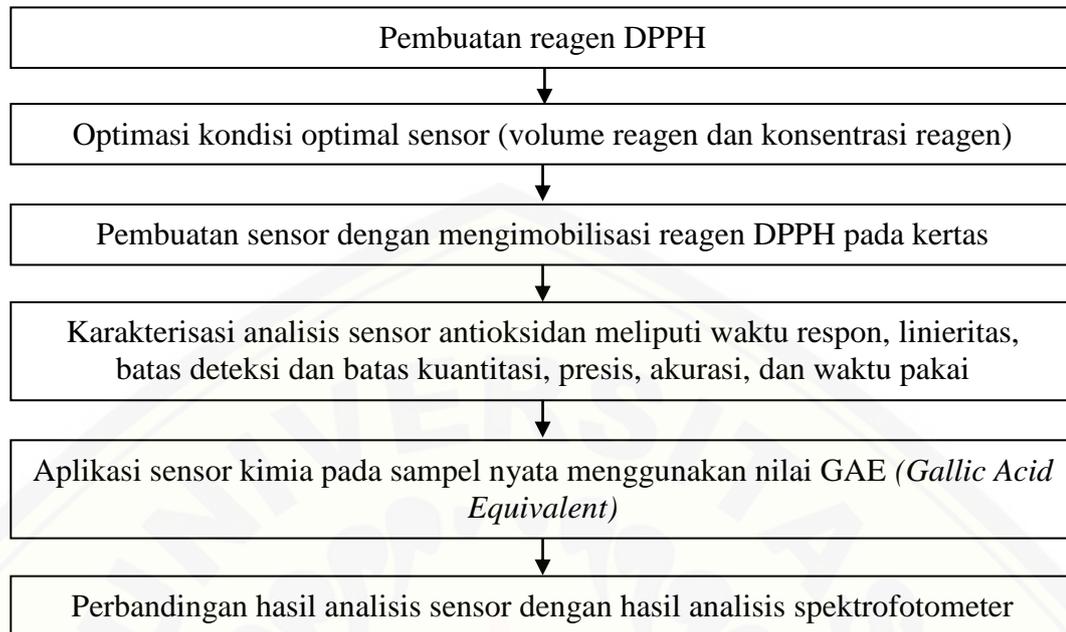
### 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Agustus 2018 sampai bulan Juli 2019, bertempat di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Analisis Instrumen, Fakultas Farmasi Universitas Jember.

### 3.3 Definisi Operasional

- a. Metode DPPH menggunakan DPPH yang dilarutkan dalam metanol p.a.
- b. Sensor antioksidan berbasis kertas (*paper microzone*) adalah sensor yang dibuat dengan cara mengimobilisasi reagen DPPH ke dalam kertas *Whattman No.1*.
- c. Aktivitas antioksidan adalah kemampuan suatu senyawa untuk dapat meredam warna ungu dari pereaksi DPPH.
- d. Aktivitas antioksidan yang diukur dinyatakan dengan mM ekuivalen asam galat (*GAE/ Galic Acid Equivalent*).
- e. GAE adalah pengukuran aktivitas antioksidan dari zat-zat tertentu, dibandingkan dengan standar asam galat.
- f. Pengambilan gambar perubahan warna dalam larutan uji pada kertas *Whattman No.1* 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 DPPH direaksikan dengan larutan sampel.
- h. Respon sensor berupa intensitas warna dalam suatu 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 pada penelitian antara lain *ball pipet*, *scanner* (*Canon Lide 120 Canoscan*), *vortex*, (*Thermo Scientific® M16710-33 Maxi Mix*), mikropipet, pipet volume, botol timbang, neraca analitik, kertas *Whatman No.1*, *white tip*, *yellow tip*, *stopwatch*, tabung *eppendorf*, kuvet, spektrofotometer UV-Vis (*Thermo Scientific GENESYS10S*), *software* ImageJ, dan seperangkat alat gelas.

#### 3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian meliputi asam galat, DPPH, metanol *p.a*, akuades, serbuk ekstrak metanol daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* (JB)), daun jambu biji merah (*Psidium guajava* (JM)), daun jambu biji putih (*Psidium guajava* (JP)), daun meniran (*Phyllanthus niruri* L. (M)), dan daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) yang diperoleh dari Materia Medika Batu.

### 3.6 Prosedur Kerja

#### 3.6.1 Preparasi Larutan Induk Asam Galat

Larutan induk I asam galat 5 mM dibuat dengan melarutkan 8,506 mg asam galat menggunakan metanol *p.a* dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas labu ukur. Kemudian dihomogenkan dengan menggunakan bantuan alat *vortex*.

#### 3.6.2 Preparasi Larutan Standard Asam Galat

Dari larutan induk dibuat pengenceran 6 macam konsentrasi asam galat dalam metanol *p.a*, yaitu, konsentrasi 0,5 mM dengan memipet 1 mL larutan induk ditambahkan metanol ad 10 mL, konsentrasi 0,4 mM dengan memipet 2 mL larutan induk ditambahkan metanol ad 25 mL, konsentrasi 0,3 mM dengan memipet 1,5 mL larutan induk ditambahkan metanol ad 25 mL, konsentrasi 0,2 mM dengan memipet 1 mL larutan induk ditambahkan metanol ad 25 mL, konsentrasi 0,1 mM dengan memipet 0,5 mL larutan induk ditambahkan metanol ad 25 mL, dan konsentrasi 0,05 mM dengan memipet 1 mL larutan asam galat 0,5 mM ditambahkan metanol ad 10 mL. Kemudian di masukkan ke dalam tabung *ependorf*, dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*.

#### 3.6.3 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah filtrat dari proses ekstraksi. Preparasi sampel dilakukan dengan menimbang 100 mg serbuk ekstrak dan ditambahkan 10 ml metanol *p.a* untuk mendapatkan konsentrasi 1 %. Kemudian sampel di ultrasonik selama  $\pm 10$  menit hingga larut dan disaring dengan kertas saring, sehingga didapatkan residu dan filtrat. Filtrat dari sampel tersebut di sentrifuge selama  $\pm 15$  menit, dan filtrat hasil sentrifuge siap digunakan untuk analisis penentuan aktivitas antioksidan. Pada prosedur ini didapatkan konsentrasi sampel sebesar 1 %. Kemudian sampel dapat diencerkan kembali untuk menyesuaikan dengan rentang kurva baku yang didapatkan selama proses optimasi konsentrasi dengan menggunakan standar asam galat.

#### 3.6.4 Pembuatan Kurva Baku Asam Galat

Kurva baku asam galat dibuat tujuh titik zona deteksi dengan tiga kali replikasi tiap titiknya. Satu titik digunakan untuk blanko tanpa penambahan asam

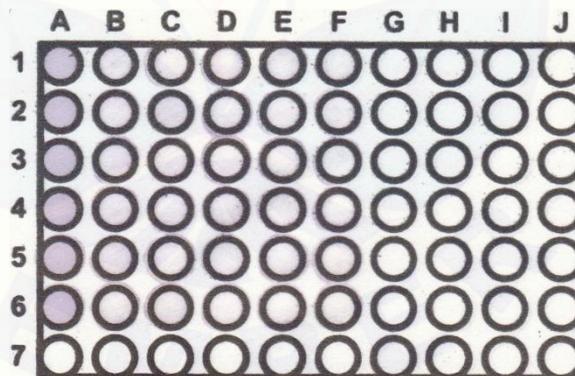
galat dan larutan standar asam galat dengan 6 macam konsentrasi dipipet sejumlah tertentu, ditambahkan dalam setiap area deteksi yang telah berisi reagen DPPH. Kemudian dilakukan pengukuran intensitas warna dalam rentang waktu tertentu. Dari data tersebut, diperoleh persamaan kurva baku menggunakan regresi linier antara konsentrasi asam galat dengan waktu dalam menit.

### 3.6.5 Pembuatan Reagen DPPH

Reagen DPPH dibuat 3 macam konsentrasi, yaitu 2 mM, 4 mM, dan 5 mM dengan menimbang 7,8864 mg, 15,77 mg, dan 19,716 mg pada neraca analitik, kemudian dilarutkan dalam metanol *p.a* pada labu ukur 10 ml hingga tanda batas.

### 3.6.6 Pembuatan Sensor Antioksidan Berbasis Kertas

Pada pembuatan sensor ini, kertas yang digunakan adalah kertas *Whatman* No.1 dengan diameter 125 mm. Setiap lembar kerja terdiri dari 10 kolom dan 7 baris lubang, dengan diameter masing-masing lubang 0,5 cm. Tinta yang digunakan adalah pasta karet. Zona deteksi berada dalam tiap lubang lingkaran yang telah diimobilisasi dengan reagen DPPH seperti yang telah ditunjukkan pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Zona Deteksi Sensor Berbasis Kertas Zona Mikro (Hidayat dkk., 2018)

### 3.6.7 Prosedur Pengukuran Intensitas Warna

Pembacaan sensor antioksidan dianalisis dengan bantuan program lunak *ImageJ*. Pengujian menggunakan sensor antioksidan berbasis kertas dilakukan dengan mengimobilisasi reagen DPPH pada kertas, kemudian masing-masing sampel diuji dengan tiga kali replikasi. Setelah itu, dilakukan pemeriksaan intensitas warna yang dihasilkan dan diperoleh data *mean blue*.

### 3.6.8 Optimasi Reagen DPPH

#### 3.6.8.1 Optimasi Volume Zona Deteksi Pada Sensor

Beberapa macam volume larutan reagen DPPH (konsentrasi 5 mM) yakni 1  $\mu\text{l}$ , 2  $\mu\text{l}$ , 3  $\mu\text{l}$ , dan 4  $\mu\text{l}$ . Masing-masing volume larutan reagen DPPH tersebut diimobilisasikan ke dalam sensor antioksidan berbasis kertas, kemudian diamati dengan memperhatikan volume larutan dan warna yang dihasilkan memenuhi, melebihi, dan atau kurang memenuhi seluruh area permukaan setiap *spot* kertas.

#### 3.6.8.2 Optimasi Konsentrasi Reagen DPPH

Penentuan konsentrasi optimal reagen DPPH yang digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan dibuat tiga macam konsentrasi DPPH, yaitu 2 mM, 4 mM, dan 5 mM. Kemudian dimasukkan 3  $\mu\text{L}$  ke dalam zona deteksi masing-masing larutan tersebut dan ditunggu hingga kering. Larutan standar asam galat menggunakan enam macam konsentrasi, yaitu 0,05 mM, 0,1 mM, 0,2 mM, 0,3 mM, 0,4 mM, dan 0,5 mM. Larutan standar asam galat di tambahkan setelah reagen DPPH kering lalu dilakukan perhitungan perubahan warna yang terjadi tiap rentang waktu tertentu dengan menggunakan bantuan *scanner*. Replikasi dilakukan sebanyak tiga kali. Konsentrasi reagen DPPH dipilih berdasarkan warna ungu yang dihasilkan. Warna ungu dipengaruhi oleh variasi konsentrasi asam galat yang digunakan. Konsentrasi reagen DPPH yang digunakan ialah konsentrasi yang memberikan warna ungu 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 standar atau sampel untuk dapat bereaksi dengan reagen DPPH sampai terjadi perubahan warna yang sempurna. Konsentrasi larutan standar yang digunakan merupakan salah satu konsentrasi yang berada di tengah rentang dari enam macam konsentrasi untuk menentukan waktu respon yaitu 0,2 mM dan direplikasi tiga kali. Pengukuran intensitas warna dilakukan setiap rentang waktu tertentu hingga reagen DPPH beraksi sempurna dan telah menunjukkan kestabilan bahkan penurunan stabilitas.

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 DPPH pada standar asam galat dengan konsentrasi 0,05 mM, 0,1 mM, 0,2 mM, 0,3 mM, 0,4 mM dan 0,5 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 DPPH pada standar asam galat konsentrasi 0,05 mM hingga 0,5 mM, kemudian diukur intensitas warna dengan menentukan nilai  $\Delta$  *mean blue*. Perhitungan LOD dan LOQ dilakukan dengan menggunakan persamaan regresi yang diperoleh dari kurva baku pada linieritas.

#### 3.6.9.4 Presisi

Presisi dilakukan dengan menggunakan standar asam galat salah satu konsentrasi yang berada di tengah rentang konsentrasi antara 0,05-0,5 mM, yaitu konsentrasi 0,2 mM sebanyak 6 (enam) kali pengulangan, kemudian dihitung kedekatan pengukuran dari nilai %RSD. Kemudian, diukur intensitas warna pada tiap pengulangan.

#### 3.6.9.5 Akurasi

Penentuan akurasi ditentukan dengan menghitung persen *recovery* dari 3 kali penambahan analit yang diukur berdasarkan pengukuran reagen DPPH dalam sampel. Pengukuran intensitas warna akan didapatkan hasil kadar pengukuran alat yang kemudian dibagi kadar penambahan standar berdasarkan persamaan % *recovery*.

#### 3.6.9.6 Waktu Pakai

Penentuan waktu pakai sensor dilakukan dengan mengamati sensor dari reagen yang disimpan pada suhu kamar  $\pm 25^{\circ}\text{C}$  dan suhu lemari es  $2-4^{\circ}\text{C}$ . Penentuan waktu pakai dilakukan dengan mengukur intensitas warna dengan penambahan salah satu konsentrasi dari enam macam konsentrasi standar asam galat, yaitu dengan konsentrasi 0,2 mM sebanyak volume tertentu dari pertama kali disimpan. Pengukuran intensitas warna dilakukan setiap rentang waktu tertentu dalam menit untuk penentuan waktu pakai pada suhu kamar  $25^{\circ}\text{C}$  dan pengamatan setiap 24 jam pada suhu lemari es  $2-4^{\circ}\text{C}$  sampai diketahui sudah tidak layak digunakan. Penentuan waktu pakai dilakukan berdasarkan kurva hubungan antara waktu dan intensitas warna.

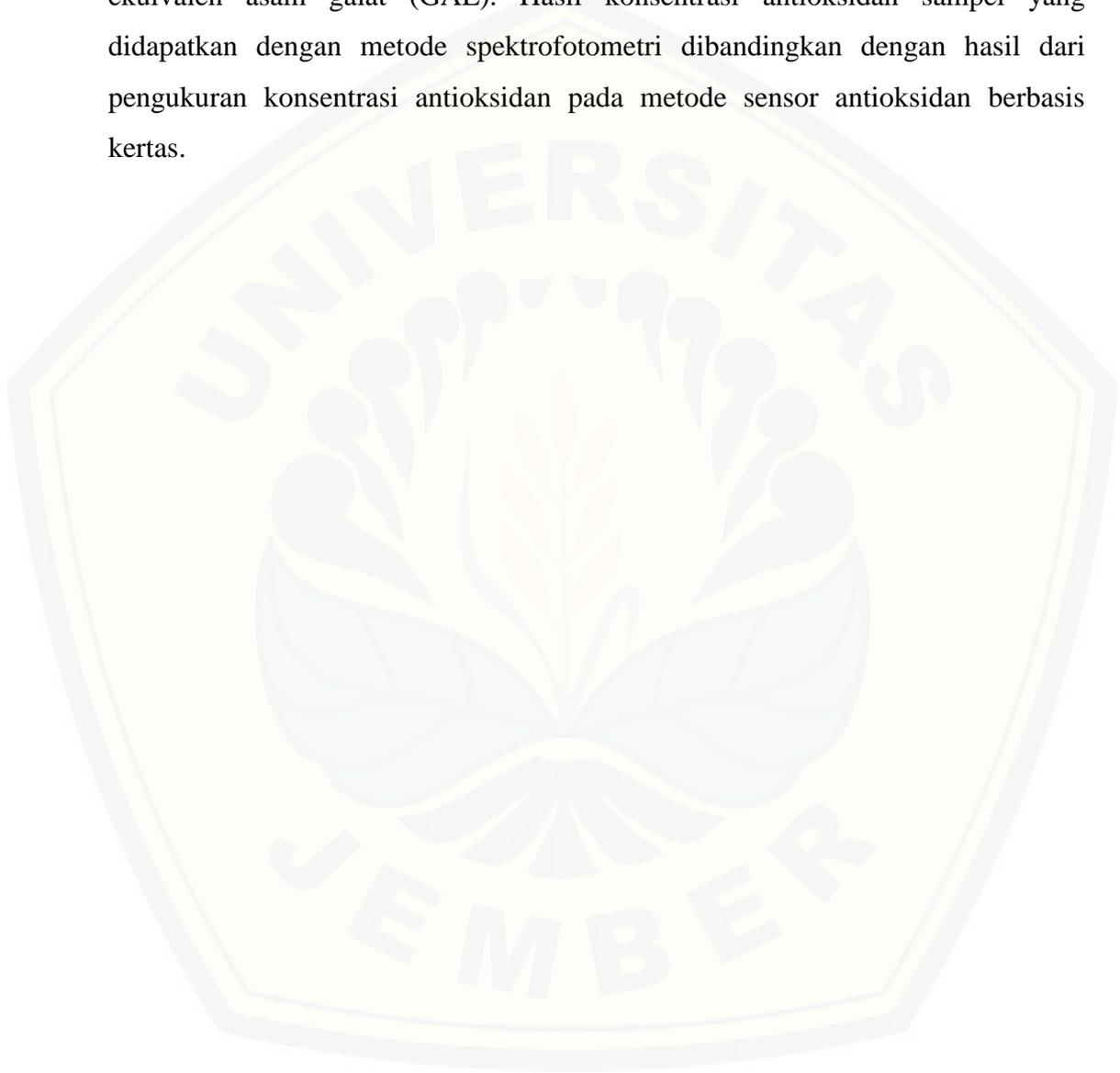
### 3.7 Aplikasi Sensor Pada Sampel

Sampel yang sudah disiapkan diambil filtratnya untuk analisis aktivitas antioksidan, yaitu dengan mengimmobilisasi 3 $\mu\text{l}$  sampel dalam metanol pada kertas zona mikro yang telah diimmobilisasi DPPH sebelumnya dan dilakukan replikasi sebanyak tiga kali. Kemudian dilakukan pengukuran perubahan intensitas warna sesuai dengan waktu respon pembacaan sensor melalui *scanner*, kemudian hasil di analisis oleh bantuan program lunak *ImageJ* hingga diperoleh data *mean blue*. Dari data tersebut, diperoleh persamaan kurva baku menggunakan regresi linier.

### 3.8 Perbandingan Hasil Sensor Dengan Spektrofotometri UV-VIS

Metode penentuan kadar antioksidan dalam sampel ekstrak tanaman obat dibandingkan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Metode spektrofotometri dilakukan dengan mereaksikan larutan sampel konsentrasi 1% dengan reagen DPPH, dikocok hingga larut. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum 517 nm (Iriyulkovit dkk., 2018). Kemudian, dibuat kurva baku antara konsentrasi asam galat terhadap absorbansi yang terbentuk,

sehingga didapatkan persamaan regresi. Masing-masing sampel direaksikan dengan langkah yang sama pada waktu respon, sehingga dapat diketahui nilai absorbansi sampel ( $y$ ). Nilai  $y$  dimasukkan ke persamaan regresi untuk mendapatkan nilai  $x$  sebagai nilai konsentrasi antioksidan yang setara dengan mM ekuivalen asam galat (GAE). Hasil konsentrasi antioksidan sampel yang didapatkan dengan metode spektrofotometri dibandingkan dengan hasil dari pengukuran konsentrasi antioksidan pada metode sensor antioksidan berbasis kertas.



## BAB 5. KESIMPULAN

### 5.1 Kesimpulan

Sebuah metode uji DPPH berbasis kertas telah dikembangkan untuk analisis aktivitas antioksidan dengan menggunakan deteksi kolorimetri dengan *scanner* desktop dan bantuan perangkat lunak *ImageJ*. Dari penelitian yang telah dilakukan dapat diperoleh beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Kondisi optimal operasional sensor antioksidan berbasis kertas memerlukan penggunaan volume sampel dan reagen dengan volume 3  $\mu\text{L}$  dan konsentrasi reagen DPPH optimal pada 5 mM.
2. Karakterisasi analisis sensor antioksidan berbasis kertas terhadap asam galat meliputi:
  - a. Waktu respon yang diperoleh pada menit ke-12.
  - b. Daerah linier yang diperoleh dari 6 macam konsentrasi asam galat yang digunakan mendapatkan persamaan regresi  $y = 26,823x + 25,2$  dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) adalah 0,9895.
  - c. Reagen sensor antioksidan berbasis kertas ini memiliki nilai batas deteksi (LOD) sebesar 0,0349 mM GAE dan batas kuantitasi (LOQ) sebesar 0,1164 mM GAE.
  - d. Presisi yang dihasilkan pada sensor antioksidan berbasis kertas ini dapat dikatakan baik pada tiap sampel karena memperoleh nilai RSD  $< 2\%$ .
  - e. Akurasi yang dihasilkan pada sensor antioksidan berbasis kertas ini telah memenuhi rentang % *recovery* (97-103%) dan simpangan *recovery* (RSD)  $< 2\%$ . Keakuratan metode ini sebanding dengan uji DPPH tradisional (spektrofotometri UV-Vis) pada interval kepercayaan berada diantara rentang *recovery* berdasarkan analisis 5 sampel ekstrak tanaman yang berbeda.
  - f. Waktu pakai pada sensor antioksidan berbasis kertas ini diketahui stabil selama 3 hari ketika disimpan pada 2 - 4°C.

3. Sensor antioksidan berbasis kertas ini dapat diaplikasikan pada sampel ekstrak tanaman karena penentuan aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode sensor antioksidan berbasis kertas sebanding dengan metode spektrofotometri UV-Vis ( $p > 0,05$ ).

## 5.2 Saran

Penelitian tentang “Pengembangan Sensor Antioksidan Berbasis Kertas Zona Mikro (*Paper Microzone*) Dengan Imobilisasi DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil) Pada Sampel Ekstrak Tanaman” masih diperlukan studi lebih lanjut mengenai modifikasi pembuatan reagen DPPH dan pembuatan larutan standar serta sampel, sehingga dapat dengan mudah dan pasti dalam mengidentifikasi aktivitas antioksidan dalam ekstrak tanaman. Hal ini disebabkan oleh kondisi analisis yang sama dapat menghasilkan data yang berbeda apabila perlakuan dan modifikasi yang digunakan berbeda di tiap tempat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Assis, R. Q., K. L. Andrade, L. Emanoela, G. Batista, A. D. O. Rios, D. R. Dias, E. A. Ndiaye, dan É. C. De Souza. 2019. Characterization of Mutamba (*Guazuma ulmifolia* Lam.) Fruit Flour And Development of Bread. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 101120.
- Carrilho, E., S. T. Phillips, S. J. Vella, A. W. Martinez, dan G. M. Whitesides. 2009. Paper Microzone Plates. *Analytical Chemistry*. 81(15):5990–5998.
- Center IPB, S. 2012. *Merah-Ungu Antosianin Dalam Pewarna Alami Untuk Pangan*. Bandung: Seafast Center.
- Foti, M. C. 2015. Use And Abuse of The DPPH Radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63(40):8765–8776.
- Gomes, S. a. S. S. dan M. J. F. Rebelo. 2003. A New Laccase Biosensor For Polyphenols Determination. *Sensors*. 3:166–175.
- Halliwell, B. dan J. M. C. Gutteridge. 2015. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Fifth Edition. Oxford: Oxford University Press.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode Dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1(3):117–135.
- Hidayat, M. A., A. Fitri, dan B. Kuswandi. 2017. Scanometry As Microplate Reader For High Throughput Method Based On DPPH Dry Reagent For Antioxidant Assay. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 7(3):395–400.
- Hidayat, M. A., P. Sari, dan B. Kuswandi. 2018. Simple Scanometric Assay Based On Dpph Immobilized On Pharmaceutical Blister For Determination of Antioxidant Capacity In The Herbal Extracts. *Pharmaceutical Journal*. 22(3):450–459.
- Huang, S. S., J. S. Deng, H. J. Chen, Y. H. Lin, dan G. J. Huang. 2014. Antioxidant Activities of Two Metallothionein-Like Proteins From Sweet Potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam. “Tainong 57”) Storage Roots And Their Synthesized Peptides. *Botanical Studies*. 55(1):1–9.
- Irivibulkovit, K. S., S. N. Ouanthavong, dan Y. S. Ameenoi. 2018. Paper-Based DPPH Assay For Antioxidant Activity Analysis. *Analytical Science*. 34(July):795–800.
- Ismail, A., Z. M. Marjan, dan C. W. Foong. 2004. Total Antioxidant Activity And Phenolic Content In Selected Vegetables. *Food Chemistry*. 87(4):581–586.

- Mandal, S., Satish Yadav, Sunita Yadav, dan R. K. Nema. 2009. Antioxidants: a review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 1(1):102–104.
- Micheloni, O. B., A. E. Farroni, P. García, dan R. L. E. Furlan. 2018. Rapid Autographic Method For Detection of Enzymatic Browning Inhibitors Based On Enzyme Immobilization. *Food Chemistry*. 269:638-643
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakar Journal of Science and Technology*. 26(December 2003):211–219.
- Noer, S., R. D. Pratiwi, dan E. Gresinta. 2018. Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia ( Tanin , Saponin Dan Flavonoid Sebagai Kuersetin ) Pada Ekstrak Daun Inggu ( *Ruta angustifolia L.* ). *Jurnal Ilmu-Ilmu MIPA*. 18(2):19–29.
- Pisoschi, A. M. dan G. P. Negulescu. 2012. Methods For Total Antioxidant Activity Determination: a review. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*. 01(01):1–10.
- Redha, A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Teknologi Pertanian Politeknik Negeri Pontianak*. 9(2):196–202.
- Sari, A. N. 2015. Antioksidan Alternatif Untuk Menangkal Bahaya Radikal Bebas Pada Kulit. *Journal of Islamic Science and Technology*. 1(1):63–68.
- Vaya, J. dan M. Aviram. 2001. Nutritional Antioxidants Mechanisms of Action, Analyses of Activities And Medical Applications. *Current Medicinal Chemistry - Immunology, Endocrine & Metabolic Agents*. 1:99–117.
- Vilanova, C. D. D. A., R. P. Pereira, L. G. B. Reetz, L. Oliveira, I. L. G. Farias, A. A. Boligon, dan M. L. Athayde. 2014. Antioxidant Effects of *Phyllanthus niruri* Tea On Healthy Subjects. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 113–118.
- Wang, J., Y. De Yue, F. Tang, dan J. Sun. 2012. TLC Screening For Antioxidant Activity of Extracts From Fifteen Bamboo Species And Identification Of Antioxidant Flavone Glycosides From Leaves of Bambusa. *Textilis Mcclure. Molecules*. 17(10):12297–12311.
- Wang, L., Y. Luo, Y. Wu, F. Xia, dan Z. Wu. 2018. Quickly Verifying The Antioxidant Contribution of The Individual Composition In Natural Antioxidants By HPLC-Free Radical Scavenging Detection. *Food Science and Technology*. 96:461–468.
- Yuwono, M. dan G. Indrayanto. 2005. Validation of Chromatographic Methods of Analysis. *Profiles Of Drug Substances, Excipients, And Related Methodology*. 32(05)

Zaitunah, A. dan S. Hut. 2002. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Dalam Bidang Farmasi. *USU Digital Library*. (1987):1-7.

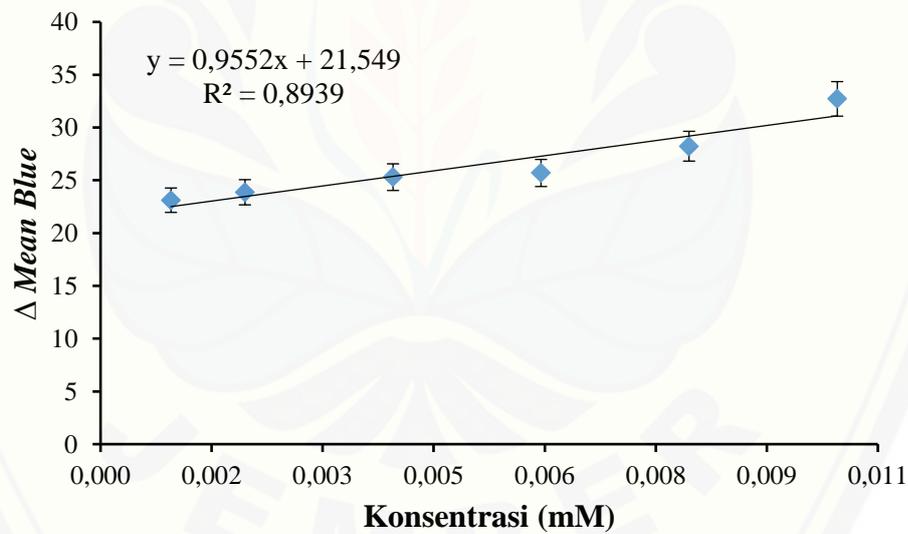


## LAMPIRAN

## LAMPIRAN 1. LINIERITAS KURVA BAKU ASAM GALAT

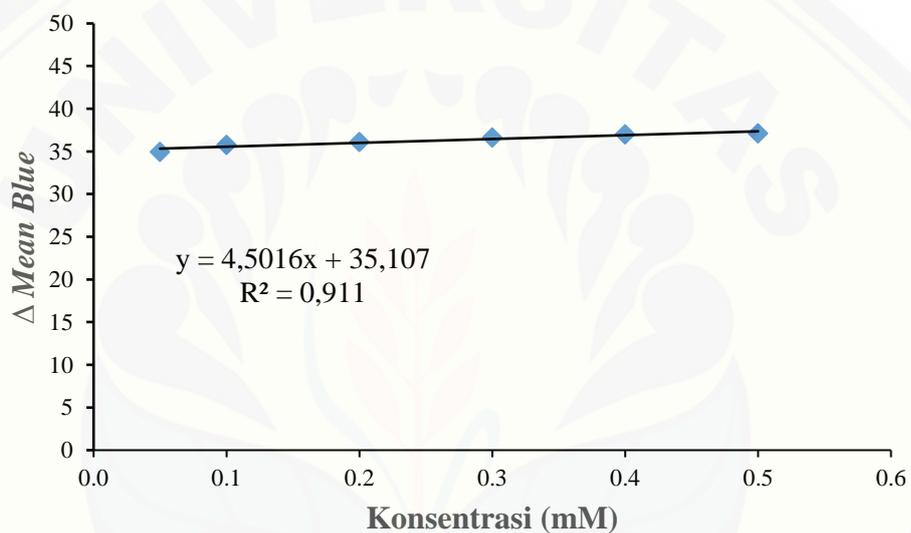
## 1. Konsentrasi DPPH 2 mM

	Blanko	0,05mM	0,1mM	0,2mM	0,3mM	0,4mM	0,5mM
Blue	194,788	219,508	218,609	221,185	221,829	225,222	227,119
Blue	194,151	219,230	218,208	218,873	218,320	220,350	226,929
Blue	194,488	214,027	218,205	219,264	220,350	222,538	227,515
<i>Mean</i>	194,476	217,588	218,341	219,774	220,166	222,703	227,188
$\Delta$ Mean	-	23,113	23,865	25,298	25,691	28,228	32,712
SD	0,319	3,087	0,232	1,238	1,762	2,440	0,299
RSD	0,164	1,419	0,106	0,563	0,800	1,096	0,132
X	-	1,637	2,425	3,925	4,336	6,992	11,687



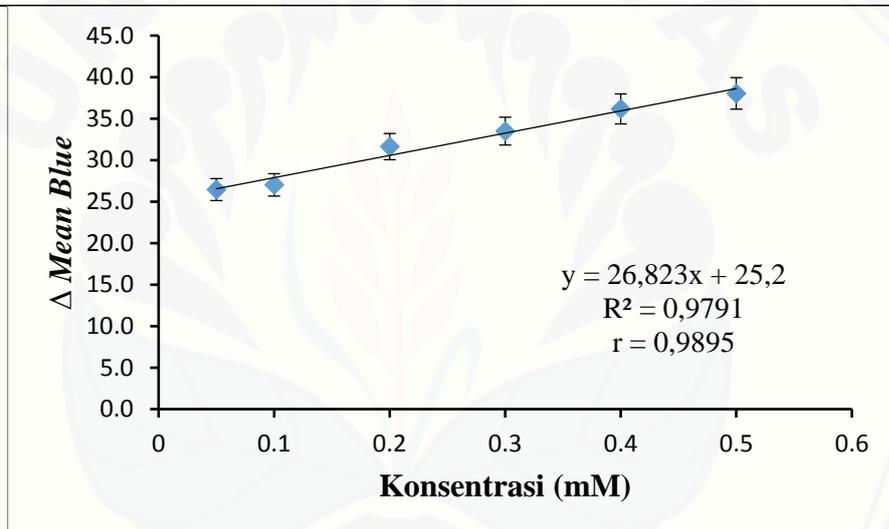
## 2. Konsentrasi DPPH 4 mM

	Blanko	0,05mM	0,1mM	0,2mM	0,3mM	0,4mM	0,5mM
Blue	188,299	222,847	224,308	224,883	225,180	225,499	225,573
Blue	186,851	224,997	224,003	224,543	225,223	226,021	225,778
Blue	190,724	222,895	224,864	224,784	225,381	225,348	225,905
<i>Mean</i>	188,625	223,580	224,416	224,737	225,261	225,623	225,752
$\Delta$ Mean	-	34,955	35,791	36,112	36,637	36,998	37,127
SD	1,957	1,228	0,432	0,175	0,106	0,353	0,168
RSD	1,037	0,549	0,192	0,078	0,047	0,157	0,074
X	-	-0,034	0,152	0,223	0,340	0,420	0,449

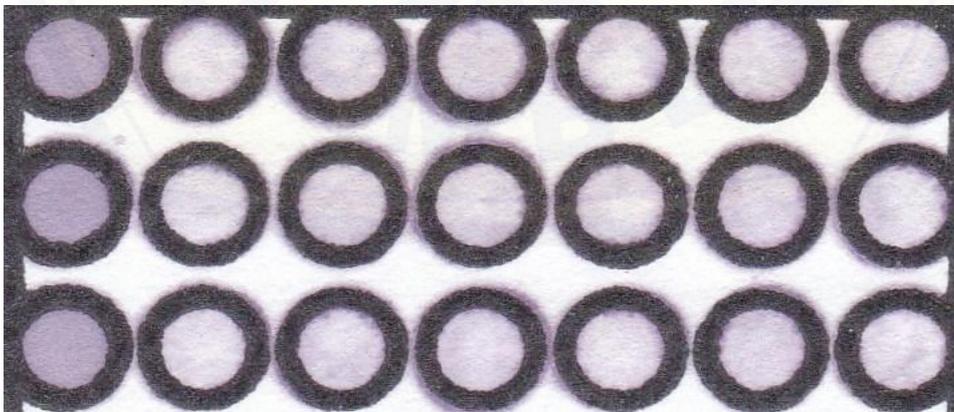


## 3. Konsentrasi DPPH 5 mM

	Blanko	0,05mM	0,1mM	0,2mM	0,3mM	0,4mM	0,5mM
Blue	194,936	221,347	221,894	226,995	228,592	230,996	233,151
Blue	195,726	221,845	222,920	227,101	228,662	232,275	234,430
Blue	195,387	222,200	222,272	226,832	229,266	231,274	232,579
<i>Mean</i>	195,350	221,797	222,362	226,976	228,840	231,515	233,387
$\Delta$ Mean	-	26,448	27,012	31,626	33,490	36,165	38,037
SD	0,396	0,428	0,519	0,136	0,371	0,673	0,948
RSD	0,203	0,193	0,233	0,060	0,162	0,291	0,406
X	-	0,047	0,068	0,240	0,309	0,409	0,479



Blanko    0,05 mM    0,1 mM    0,2 mM    0,3 mM    0,4 mM    0,5 mM



## LAMPIRAN 2. LOD dan LOQ

Kosentrasi Asam Galat (X)	$\Delta$ Mean Blue (Y)	Yi	(Y-Yi)	(Y-Yi) <sup>2</sup>
0,05 mM	26,448	26,541	0,093	0,0087
0,1 mM	27,012	27,882	0,870	0,7574
0,2 mM	31,626	30,565	1,061	1,1266
0,3 mM	33,490	33,247	0,243	0,0591
0,4 mM	36,165	35,929	0,236	0,0556
0,5 mM	38,037	38,612	0,575	0,3301
$\sum (Y-Yi)^2$				0,3896
$S(y/x)^2$				0,0974
$S(y/x)$				0,3121
LOD				0,0349
LOQ				0,1164

$$S(y/x)^2 = \frac{\sum(Y - Yi)^2}{N - 2}$$

$$= \frac{0,3896}{6-2}$$

$$= 0,0974$$

$$LOD = \frac{3 \times S(y/x)}{b \text{ (slope)}}$$

$$LOQ = \frac{10 \times S(y/x)}{b \text{ (slope)}}$$

$$LOD = \frac{3 \times 0,3121}{26,823}$$

$$LOQ = \frac{10 \times 0,3121}{26,823}$$

$$LOD = \frac{0,9363}{26,823}$$

$$LOQ = \frac{3,121}{26,823}$$

$$LOD = 0,0349 \text{ mM GAE}$$

$$LOQ = 0,1164 \text{ mM GAE}$$

## LAMPIRAN 3. PRESISI

1. Ekstrak Metanol Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava*)



2. Ekstrak Metanol Daun Jambu Biji Merah (*Psidium guajava*)



3. Ekstrak Metanol Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia*)



4. Ekstrak Metanol Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)



5. Ekstrak Metanol Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.)



## LAMPIRAN 4. AKURASI

1. Ekstrak Metanol Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava*)

SAMPEL	JP	JM	M	JB	TEH
Teoritis 30%	0,349	0,542	0,205	0,202	0,573
Teoritis 45%	0,524	0,810	0,307	0,303	0,859
Teoritis 60%	0,698	1,081	0,409	0,404	1,145

## a. Adisi 30 %

	Blanko	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Xc	% Recovery
Blue	198,710	232,920	34,534	0,348	99,706
Blue	200,261	232,725	34,339	0,341	97,623
Blue	198,363	233,185	34,799	0,358	102,536
Blue	197,638	232,809	34,423	0,344	98,520
Blue	197,515	232,731	34,345	0,341	97,687
Blue	197,831	233,035	34,649	0,352	100,934
	198,386			mean	99,501
				SD	1,954
				RSD	1,964

## b. Adisi 45 %

	Blanko	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Xc	% Recovery
Blue	198,710	237,950	39,564	0,535	102,194
Blue	200,261	237,269	38,883	0,510	97,349
Blue	198,363	237,227	38,841	0,509	97,050
Blue	197,638	237,490	39,104	0,518	98,922
Blue	197,515	237,399	39,013	0,515	98,274
Blue	197,831	237,416	39,030	0,516	98,395
	198,386			Mean	98,697
				SD	1,848
				RSD	1,873

## c. Adisi 60 %

	Blanko	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Xc	% Recovery
Blue	198,710	241,830	43,444	0,680	97,442
Blue	200,261	241,928	43,542	0,684	97,966
Blue	198,363	242,031	43,645	0,688	98,516
Blue	197,638	242,351	43,965	0,700	100,225
Blue	197,515	242,184	43,798	0,693	99,333
Blue	197,831	242,093	43,707	0,690	98,847
	198,386			Mean	98,722
				SD	0,990
				RSD	1,003

2. Ekstrak Metanol Daun Jambu Biji Merah (*Psidium guajava*)

## a. Adisi 30 %

	Blanko	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Xc	% Recovery
Blue	198,710	238,222	39,836	0,546	100,671
Blue	200,261	238,346	39,960	0,550	101,524
Blue	198,363	238,270	39,884	0,547	101,002
Blue	197,638	237,937	39,551	0,535	98,711
Blue	197,515	237,871	39,485	0,533	98,257
Blue	197,831	238,288	39,902	0,548	101,125
	198,386			Mean	100,215
				SD	1,376
				RSD	1,373

## b. Adisi 45 %

	Blanko	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Xc	% Recovery
Blue	198,710	245,688	47,302	0,824	101,726
Blue	200,261	245,538	47,152	0,818	101,036
Blue	198,363	245,545	47,159	0,819	101,068
Blue	197,638	245,540	47,154	0,818	101,045
Blue	197,515	245,179	46,793	0,805	99,383
Blue	197,831	245,315	46,929	0,810	100,009
	198,386			Mean	100,711
				SD	0,852
				RSD	0,846

## c. Adisi 60 %

	Blanko	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Xc	% Recovery
Blue	198,710	251,830	53,444	1,053	97,406
Blue	200,261	251,928	53,542	1,057	97,744
Blue	198,363	252,031	53,645	1,060	98,099
Blue	197,638	252,351	53,965	1,072	99,203
Blue	197,515	252,184	53,798	1,066	98,627
Blue	197,831	252,093	53,707	1,063	98,313
	198,386			Mean	98,233
				SD	0,639
				RSD	0,651

3. Ekstrak Metanol Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia*)

## a. Adisi 30 %

	Blanko	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Xc	% Recovery
Blue	198,710	228,910	30,524	0,198	98,254
Blue	200,261	229,073	30,687	0,205	101,263
Blue	198,363	228,923	30,537	0,199	98,494
Blue	197,638	228,915	30,529	0,199	98,347
Blue	197,515	228,978	30,592	0,201	99,509
Blue	197,831	229,099	30,713	0,206	101,743
	198,386			Mean	99,602
				SD	1,547
				RSD	1,553

## b. Adisi 45 %

	Blanko	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Xc	% Recovery
Blue	198,710	234,457	36,071	0,405	98,847
Blue	200,261	234,581	36,195	0,410	99,975
Blue	198,363	234,698	36,312	0,414	101,039
Blue	197,638	234,538	36,152	0,408	99,584
Blue	197,515	234,459	36,073	0,405	98,866
Blue	197,831	234,722	36,336	0,415	101,257
	198,386			Mean	99,928
				SD	1,041
				RSD	1,042

## c. Adisi 60 %

	Blanko	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Xc	% Recovery
Blue	198,710	237,798	39,412	0,530	97,217
Blue	200,261	237,886	39,500	0,533	97,819
Blue	198,363	237,770	39,384	0,529	97,025
Blue	197,638	238,193	39,807	0,545	99,919
Blue	197,515	238,221	39,835	0,546	100,110
Blue	197,831	238,108	39,722	0,541	99,337
	198,386			Mean	98,571
				SD	1,383
				RSD	1,403

4. Ekstrak Metanol Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

## a. Adisi 30 %

	Blanko	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Xc	% Recovery
Blue	198,710	228,982	30,596	0,201	98,126
Blue	200,261	228,967	30,581	0,201	97,853
Blue	198,363	228,987	30,601	0,201	98,217
Blue	197,638	228,985	30,599	0,201	98,181
Blue	197,515	229,005	30,619	0,202	98,544
Blue	197,831	228,921	30,535	0,199	97,017
	198,386			Mean	97,990
				SD	0,525
				RSD	0,536

## b. Adisi 45 %

	Blanko	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Xc	% Recovery
Blue	198,710	232,019	33,633	0,314	102,405
Blue	200,261	231,781	33,395	0,306	99,514
Blue	198,363	232,081	33,695	0,317	103,157
Blue	197,638	231,772	33,386	0,305	99,405
Blue	197,515	231,747	33,361	0,304	99,101
Blue	197,831	232,064	33,678	0,316	102,951
	198,386			mean	101,089
				SD	1,936
				RSD	1,915

## c. Adisi 60 %

	Blanko	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Xc	% Recovery
Blue	198,710	234,488	36,102	0,406	99,372
Blue	200,261	234,755	36,369	0,416	101,805
Blue	198,363	234,321	35,935	0,400	97,849
Blue	197,638	234,459	36,073	0,405	99,107
Blue	197,515	234,447	36,061	0,405	98,998
Blue	197,831	234,289	35,903	0,399	97,558
	198,386			Mean	99,115
				SD	1,506
				RSD	1,520

5. Ekstrak Metanol Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.)

## a. Adisi 30 %

	Blanko	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Xc	% Recovery
Blue	198,710	238,922	40,536	0,572	99,779
Blue	200,261	239,199	40,813	0,582	101,582
Blue	198,363	238,906	40,520	0,571	99,675
Blue	197,638	239,172	40,786	0,581	101,406
Blue	197,515	238,990	40,604	0,574	100,222
Blue	197,831	239,113	40,727	0,579	101,022
	198,386			Mean	100,614
				SD	0,832
				RSD	0,827

## b. Adisi 45 %

	Blanko	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Xc	% Recovery
Blue	198,710	246,533	48,147	0,855	99,591
Blue	200,261	246,980	48,594	0,872	101,531
Blue	198,363	246,603	48,217	0,858	99,895
Blue	197,638	247,167	48,781	0,879	102,342
Blue	197,515	246,891	48,505	0,869	101,145
Blue	197,831	246,356	47,970	0,849	98,823
	198,386			Mean	100,554
	198,710			SD	1,331
				RSD	1,324

## c. Adisi 60 %

	Blanko	Mean Blue	$\Delta$ Mean Blue	Xc	% Recovery
Blue	198,710	254,625	56,239	1,157	101,063
Blue	200,261	254,248	55,862	1,143	99,835
Blue	198,363	254,673	56,287	1,159	101,219
Blue	197,638	254,220	55,834	1,142	99,744
Blue	197,515	254,208	55,822	1,142	99,705
Blue	197,831	254,460	56,074	1,151	100,525
	198,386			Mean	100,348
				SD	0,684
				RSD	0,682

LAMPIRAN 5. PENGUKURAN SAMPEL DENGAN SENSOR ANTIOKSIDAN BERBASIS KERTAS

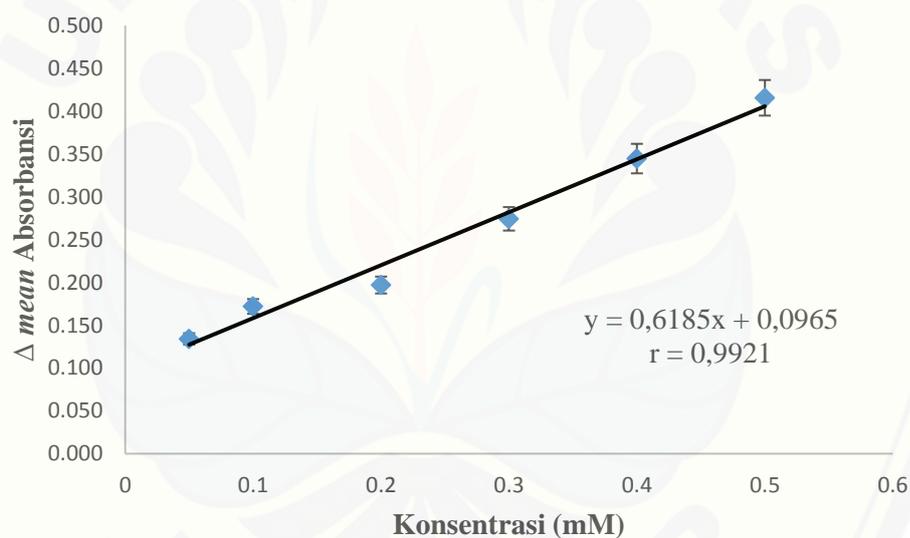
Replikasi	Larutan DPPH 5 mM dalam methanol	Nilai RGB	Sampel setelah direaksikan dengan DPPH	Nilai RGB
1		194.559		228.514
2		197.179		228.014
3		192.293		228.594

Data hasil pengukuran sampel dengan sensor antioksidan berbasis kertas

	Blanko	JB	JM	JP	M	TEH
Blue	194.936	229.007	228.69	232.104	229.81	223.058
Blue	195.726	227.967	230.572	231.882	230.608	225.118
Blue	195.387	229.443	231.448	232.07	227.601	223.641
<i>Mean Blue</i>	195.350	228.806	230.237	232.019	229.340	223.939
$\Delta$ <i>Mean Blue</i>	-	33.456	34.887	36.669	33.990	28.589
SD	0.396	0.758	1.409	0.120	1.558	1.062
RSD	0.203	0.331	0.612	0.052	0.679	0.474
x	-	0.308	0.361	0.428	0.328	0.126

## LAMPIRAN 6. PENGUKURAN SAMPEL DENGAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

	Blanko	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Replikasi 1	0,990	0,848	0,827	0,777	0,722	0,645	0,541
Replikasi 2	0,989	0,848	0,812	0,800	0,711	0,666	0,590
Replikasi 3	0,989	0,870	0,813	0,800	0,712	0,623	0,590
<i>mean blue</i>	0,989	0,855	0,817	0,792	0,715	0,645	0,574
$\Delta$ <i>mean blue</i>	-	0,134	0,172	0,197	0,274	0,345	0,416
SD	0,001	0,013	0,008	0,013	0,006	0,022	0,028
RSD	0,058	1,485	1,026	1,676	0,851	3,335	4,931



LAMPIRAN 7. SIGNIFIKANSI PERBANDINGAN PENGUKURAN METODE SENSOR ANTIOKSIDAN DENGAN SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis

1. Ekstrak Metanol Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava*)

Paired Samples Test								
Pair 1	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Sensor - Spektro	-,023667	,017502	,010105	-,067145	,019812	-2,342	2	,144

2. Ekstrak Metanol Daun Jambu Biji Merah (*Psidium guajava*)

Paired Samples Test								
Pair 1	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Sensor - Spektro	,250667	,125954	,072719	-,062220	,563553	3,447	2	,075

3. Ekstrak Metanol Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia*)

Paired Samples Test								
Pair 1	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Sensor - Spektro	,090667	,043501	,025115	-,017396	,198729	3,610	2	,069

4. Ekstrak Metanol Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

Paired Samples Test								
Pair 1	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Sensor - Spektro	,090667	,057735	,033333	-,052755	,234088	2,720	2	,113

5. Ekstrak Metanol Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.)

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								
Sensor - Spektro	,092667	,068340	,039456	-,077099	,262432	2,349	2	,143

