

Pengembangan Sensor Antioksidan berbasis Kertas Zonamikro dengan Imobilisasi DPPH pada Sampel Ekstrak Tanaman

(Development of Antioxidant Sensor based on DPPH Immobilization onto Microzone Paper for Plant Extract)

Muhammad Fantoni, Indah Yulia Ningsih, Moch. Amrun Hidayat, Bambang Kuswandi
Fakultas Farmasi Universitas Jember
Jl. Kalimantan No. 37, Jember 68121
e-mail: fantoni745@gmail.com

Abstract

Development of a paper-based antioxidant sensor used DPPH reagent. This sensor is made using a screen-printing method to create a 5 mm diameter detection zone which is immobilized with DPPH reagents. The analysis was carried out in one step by immobilizing antioxidants/samples into the detection zone. After reduction by antioxidants, DPPH radicals become stable DPPH molecules, resulting in a change in color from purple to pale yellow. The purple intensity of DPPH was inversely proportional to the antioxidant activity of the sample, and was measured using the help of ImageJ software. The optimal conditions for using DPPH reagents at a concentration of 5 mM and the volume in each detection zone were 3 μ L. Characterization of this sensor analysis was carried out on gallic acid with the response time in the 12-minute, linearity with $r = 0,9895$, detection limit (LOD) value 0,0349 mM GAE, the quantitation limit (LOQ) value was 0,1164 mM GAE, with precision $<2\%$ (RSD), and meets the accuracy range of 97-103%. This sensor is then validated against DPPH spectrophotometry UV-Vis by analyzing antioxidant activity from plant extracts. The results showed no significant differences for gallic acid equivalent for all samples obtained from two methods at a confidence level of 97-103%, indicating that the method developed could be relied upon to analyze antioxidant activity from real samples. Finally, the paper-based antioxidant sensor is known to be stable for 3 days when stored in the refrigerator (2-4 $^{\circ}$ C), stable for 2 hours at room temperature (25 $^{\circ}$ C), and makes paper sensors easy to use for end user.

Keywords: DPPH assay, paper-based sensors, antioxidant activity

Abstrak

Pengembangan sensor antioksidan berbasis kertas digunakan reagen DPPH. Sensor ini dibuat menggunakan metode cetak sablon untuk membuat zona deteksi melingkar berdiameter 5 mm yang diimobilisasikan dengan reagen DPPH. Analisis dilakukan dengan mengimobilisasikan antioksidan/sampel ke zona deteksi. Setelah reduksi oleh antioksidan, radikal DPPH menjadi molekul DPPH stabil, menghasilkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning pucat. Intensitas warna ungu DPPH berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan dari sampel, dan diukur menggunakan bantuan *software ImageJ*. Kondisi optimal penggunaan reagen DPPH pada konsentrasi 5 mM dan volume pada tiap zona deteksi sebesar 3 μ L. Karakterisasi analisis sensor ini dilakukan terhadap asam galat dengan waktu respon pada menit ke-12, linieritas dengan $r=0,9895$, nilai batas deteksi (LOD) 0,0349 mM GAE, nilai batas kuantitasi (LOQ) sebesar 0,1164 mM GAE, dengan presisi $< 2\%$ (RSD), dan memenuhi rentang akurasi 97-103%. Sensor ini kemudian divalidasi terhadap uji DPPH dengan menganalisis aktivitas antioksidan dari ekstrak tanaman. Hasil penelitian menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan untuk asam galat yang setara untuk semua sampel yang diperoleh dari dua metode pada tingkat kepercayaan 97-103%, menunjukkan bahwa metode yang dikembangkan dapat diandalkan untuk analisis aktivitas antioksidan dari sampel nyata. Sensor antioksidan berbasis kertas diketahui stabil selama 3 hari bila disimpan dalam lemari es (2-4 $^{\circ}$ C), stabil selama 2 jam pada suhu ruang (25 $^{\circ}$ C), dan sensor kertas mudah digunakan untuk pengguna akhir.

Kata kunci: uji DPPH, sensor berbasis kertas, aktivitas antioksidan

Pendahuluan

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 [4]. Sumber radikal bebas dapat berasal dari 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 [12]. 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 [10]. 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 [11]. 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 [3].

Sejauh ini banyak peneliti yang telah mengembangkan sensor berbasis DPPH dalam beragam matriks pendukung (*support matrix*), diantaranya lempeng KLT [8], basis *microwell plate* [6], basis blister [7], dan basis kertas laminasi [9]. 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 [2].

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan sensor antioksidan berbasis imobilisasi DPPH pada kertas zona mikro (*microzone paper*) 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 sampel ekstrak metanol daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia*), daun meniran (*Phyllanthus niruri* L.), dan daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dalam jumlah mikro yang diperoleh dari Materia Medika Batu.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain *ball* pipet, *scanner* (Canon Lide 120 Canoscan), *vortex*, (Thermo Scientific® M16710-33 Maxi Mix), mikropipet, neraca analitik, kertas *Whattman* No.1, *white tip*, *yellow tip*, *stopwatch*, tabung *ependorf*, kuvet, spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific GENESYS10S), *software ImageJ*, dan seperangkat alat gelas.

Bahan yang digunakan meliputi asam galat, DPPH, metanol p.a, akuades, serbuk ekstrak metanol daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* (JB)), daun meniran (*Phyllanthus niruri* L. (M)), dan daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) yang diperoleh dari Materia Medika Batu.

Pembuatan Ekstrak Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah filtrat dari proses ekstraksi. Serbuk sampel ditimbang 100 mg dan ditambahkan 10 ml metanol p.a untuk mendapatkan konsentrasi 1 %. Kemudian sampel di ultrasonik selama ± 10 menit hingga larut dan disaring dengan kertas saring, sehingga didapatkan residu dan filtrat. Filtrat dari sampel tersebut di *sentrifuge* selama ± 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.

Pembuatan Reagen DPPH dan Standar Asam Galat

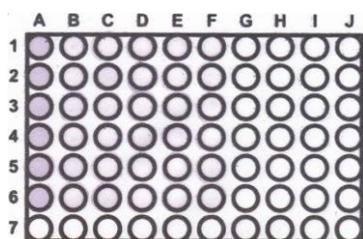
Reagen DPPH konsentrasi 5 mM dibuat dengan menimbang 19,716 mg pada neraca analitik, kemudian dilarutkan dalam metanol p.a pada labu ukur 10 ml hingga tanda batas.

Larutan standar asam galat dibuat 6 macam konsentrasi dalam metanol p.a, yaitu, konsentrasi 0,5 mM, 0,4 mM, 0,3 mM, 0,2 mM, 0,1 mM, dan 0,05 mM. Kemudian di masukkan ke dalam tabung *ependorf*, dan dihomogenkan

dengan menggunakan vortex.

Fabrikasi Sensor Antioksidan Berbasis Kertas

Perangkat berbasis kertas dibuat menggunakan metode cetak sablon (*printing*) yang memiliki 70 area kerja melingkar dengan diameter 0,5 cm. Untuk membuat perangkat DPPH berbasis kertas, 3,0 µL larutan DPPH 5 mM ditambahkan ke zona deteksi. Setelah mengering, alat ini siap digunakan untuk analisis aktivitas antioksidan.



Gambar 1. Desain Sensor Antioksidan berbasis Kertas

Analisis perubahan Warna Sensor Antioksidan berbasis kertas

Pengamatan perubahan warna sensor antioksidan berbasis kertas dilakukan secara visual dan menggunakan *software ImageJ* untuk mengetahui nilai *mean blue*. Pengambilan gambar dapat dilakukan menggunakan *scanner*.

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

Sebanyak 3 µL ke dalam zona deteksi masing-masing reagen tersebut. Larutan standar asam galat konsentrasi 0,05 mM, 0,1 mM, 0,2 mM, 0,3 mM, 0,4 mM, dan 0,5 mM 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, mempunyai nilai slope dan r yang baik.

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 3 µL, ditambahkan dalam setiap area deteksi yang telah berisi reagen DPPH. Dari data *mean blue* dibuat persamaan kurva baku menggunakan

regresi linier antara konsentrasi asam galat dengan waktu dalam menit.

Uji 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.

Uji LOD dan LOQ

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 Δ *mean blue*. Perhitungan LOD dan LOQ dilakukan dengan menggunakan persamaan regresi yang diperoleh dari kurva baku pada linieritas [5].

$$Q = \frac{k \times Sb}{SI}$$

Keterangan:

Q = LOD (batas deteksi) atau LOQ (batas kuantitasi) k = 3 untuk batas deteksi atau 10 untuk batas

kuantitasi

Sb = simpangan baku respon analitik dari blanko
SI = arah garis linear (kepekaan arah) dari kurva antara respon terhadap konsentrasi = *slope* (b pada persamaan garis $y = a+bx$)

Uji 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, dihitung kedekatan pengukuran dari nilai %RSD menggunakan program validasi metode analisis. Kemudian, diukur intensitas warna pada tiap pengulangan.

Uji 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*. Hasil percobaan dibandingkan dengan hasil teoritis yang dinyatakan dengan persen (%) dan dihitung simpangan *recovery* < 2% (RSD)[14].

Uji Waktu Respon

Waktu respon merupakan waktu yang dibutuhkan standar atau sampel untuk dapat bereaksi dengan reagen DPPH sampai terjadi perubahan warna yang sempurna. Konsentrasi 0,2 mM digunakan untuk menentukan waktu respon 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.

Uji 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°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.

Analisis Aktivitas Antioksidan Dengan Sensor Antioksidan Berbasis Kertas

Sampel yang sudah disiapkan diambil filtratnya untuk analisis aktivitas antioksidan, yaitu dengan mengimmobilisasi 3 μl 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 *software ImageJ* hingga diperoleh data *mean blue*. Dari data tersebut, diperoleh persamaan kurva baku menggunakan regresi linier.

Hasil

Optimasi Konsentrasi Reagen DPPH

Intensitas warna ungu meningkat pada konsentrasi DPPH 5 mM dan menghasilkan kurva baku yang baik dengan perolehan nilai koefisien korelasi (*r*) paling baik, yaitu 0,9895. Sedangkan, pada konsentrasi lainnya memberikan respon yang kurang baik jika dilihat dari kurva baku yang

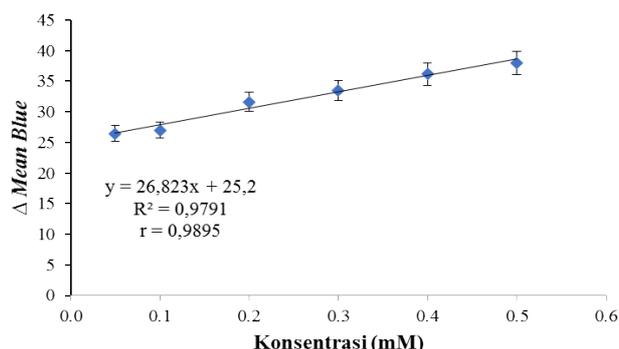
dihasilkan seperti terlihat pada Gambar 2. Oleh karena itu, 5 mM DPPH dianggap sebagai nilai optimal untuk memungkinkan analisis sensitif-respons antioksidan. Hasil ini juga menunjukkan bahwa kita dapat mengukur aktivitas antioksidan yang ditangkap radikal DPPH dengan cara respon konsentrasi yang digunakan. Penentuan kondisi optimal konsentrasi DPPH juga ditentukan dari sensitivitas yang diperoleh dari persamaan regresi ketiga macam konsentrasi. Kurva dan tabel dibawah ini merupakan hasil dari optimasi konsentrasi DPPH.

Tabel 1. Data Optimasi Konsentrasi Reagen DPPH

Konsentrasi DPPH	R ²	Slope
2 mM	0,8939	0,9552
4 mM	0,9110	4,5016
5 mM	0,9791	26,823

Pembuatan Kurva Baku Asam Galat

Kurva baku diperoleh seperti pada Gambar 2 dengan melakukan pengukuran *mean blue* tiap 3 menit. Berdasarkan kurva baku tersebut digunakan ketetapan untuk analisis berikutnya pada sampel.



Gambar 2. Kurva Baku Asam Galat (DPPH 5 mM)

Uji Linieritas

Pengukuran nilai *mean blue* tiap konsentrasi standar dapat dilihat pada Tabel 2. Dalam tabel tersebut diperoleh persamaan regresi linier, yaitu $y = 26,823x + 25,2$ dengan nilai koefisien korelasi (*r*), yaitu 0,9895. Nilai *r* tersebut menunjukkan adanya hubungan yang linier antara konsentrasi dengan respon.

Tabel 2. Nilai *Mean Blue* Untuk Daerah Linier

Konsentrasi Asam Galat	Mean Blue	Δ Mean Blue	SD (n=3)
Blanko	195,350	-	0,396
0,05 mM	221,797	26,447	0,428
0,1 mM	222,362	27,012	0,519
0,2 mM	226,976	31,626	0,136
0,3 mM	228,840	33,494	0,371
0,4 mM	231,515	36,169	0,673
0,5 mM	233,387	38,032	0,948

Uji LOD dan LOQ

Berdasarkan hasil pengujian didapatkan hasil pengukuran dengan persamaan $y = 26,823x + 25,2$. Aktivitas terendah yang dapat dideteksi sebesar 0,0349 mM GAE dan batas kuantitasi yang diperoleh sebesar 0,1164 mM GAE.

Uji Presisi

Presisi pada sensor antioksidan berbasis kertas terhadap analit dapat digolongkan baik karena memenuhi persyaratan $RSD < 2\%$ [5]. Berdasarkan perolehan persamaan regresi dapat ditentukan nilai RSD tiap sampel. Pada Tabel 3 merupakan hasil analisis serta perhitungan kadar analit dalam sampel.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Presisi Sampel

Replikasi	Mean Blanko	Sampel (mM GAE)		
		M	JB	TEH
1	196,723	0,263	0,260	0,464
2		0,268	0,271	0,466
3		0,273	0,261	0,462
4		0,268	0,262	0,460
5		0,261	0,265	0,448
6		0,267	0,261	0,449

Uji Akurasi

Hasil pengujian akurasi untuk mendeteksi aktivitas antioksidan setelah dilakukan perhitungan menggunakan rumus persen perolehan didapatkan nilai % recovery dan nilai simpangan recovery ($< 2\%$). Berdasarkan nilai akurasi tersebut diketahui bahwa metode sensor antioksidan berbasis kertas ini dapat memenuhi syarat rentang akurasi atau persen perolehan kembali, yaitu 97-103 % [14].

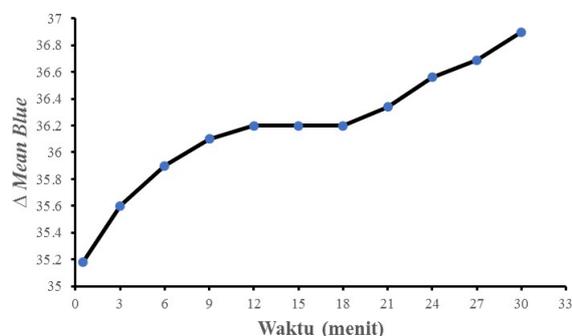
Tabel 4. Hasil Pengukuran Akurasi Sampel

SAMPSEL	% Recovery		
	30 %	45 %	60 %
Jati Belanda	99,602	99,928	98,571
SD	1,547	1,041	1,383
RSD	1,553	1,042	1,403
Meniran	97,990	101,089	99,115
SD	0,525	1,936	1,506
RSD	0,536	1,915	1,520
Teh Hijau	100,614	100,554	100,348
SD	0,832	1,331	0,684
RSD	0,827	1,324	0,682

Uji Waktu Respon

Waktu respon DPPH dan standar antioksidan pada perangkat berbasis kertas ini dilakukan selama 3 hingga 30 menit. Sensor mengalami kondisi yang

stabil pada menit ke-12 hingga menit ke-30. Oleh karena itu, waktu 12 menit digunakan sebagai waktu respon untuk aplikasi sampel berikutnya. Meskipun waktu reaksi yang dipilih dari metode yang dikembangkan mirip dengan metode tradisional (spektrofotometri UV-Vis), beberapa sampel dapat dianalisis pada waktu yang sama.



Gambar 3. Kurva Waktu Respon

Uji Waktu Pakai

Sensor antioksidan yang disimpan dalam gelap pada suhu kamar menunjukkan hilangnya stabilitas yang signifikan setelah 2 jam. Sensor antioksidan yang disimpan di lemari es, ditemukan relatif stabil selama ± 3 hari. Hasil yang diamati kurang lebih memiliki beberapa kesamaan dengan laporan penelitian sebelumnya [9] yang menunjukkan bahwa DPPH mudah terurai pada suhu kamar, tetapi lebih stabil pada suhu rendah.

Analisis Aktivitas Antioksidan Dengan Sensor Antioksidan Berbasis Kertas

Hasil pengukuran sampel didapatkan nilai kadar sampel dalam mM GAE secara berturut-turut yang memiliki aktivitas antioksidan paling besar yaitu Meniran > Jati Belanda > Teh Hijau.

Tabel 5. Data Aktivitas Antioksidan Sampel Dengan Sensor Antioksidan

Sampel	Replikasi			Aktivitas
	1	2	3	
Jati Belanda	0,331	0,262	0,330	0,307
Meniran	0,361	0,361	0,261	0,327
Teh Hijau	0,109	0,156	0,114	0,126

Pembahasan

Dalam metode uji DPPH, analisis aktivitas antioksidan didasarkan pada penghambatan DPPH radikal oleh senyawa antioksidan. Konsentrasi awal DPPH yang optimal dievaluasi terlebih dahulu untuk menentukan sensitivitas pengujian. Intensitas warna ungu meningkat dengan konsentrasi DPPH pada konsentrasi 5 mM dan menghasilkan kurva baku yang

baik dengan perolehan nilai koefisien korelasi (r) paling baik, yaitu 0,9895.

Batas deteksi dan batas kuantitasi ditentukan dengan mengukur beberapa konsentrasi standar asam galat pada konsentrasi terkecil yang masih dapat diukur, sehingga diketahui batas terkecil aktivitas antioksidan yang masih dapat terdeteksi dalam sampel. Sedangkan batas kuantitasi ditentukan dengan mengukur beberapa konsentrasi dari standar asam galat hingga konsentrasi terkecil yang masih dapat di kuantitasi.

Menurut penelitian [13], daun meniran memiliki aktivitas antioksidan sebesar 0,0634 mM, sedangkan dalam penelitian ini diperoleh kadar daun meniran sebesar 0,327 mM GAE. Dalam [1], mengisolasi senyawa yang ada dalam ekstrak jati belanda serta ditemukan aktivitas antioksidan yang dibuktikan oleh analisis kualitatif (data tidak terlampir). Pada sampel teh hijau memperoleh kadar antioksidan sebesar 0,126 mM GAE, data tersebut dapat dikatakan bahwa sampel teh hijau memiliki aktivitas antioksidan seperti yang telah dipublikasikan pada jurnal [9] memiliki kadar antara 0,100 mM hingga 0,150 mM.

Simpulan dan Saran

Sebuah metode uji DPPH berbasis kertas telah dikembangkan untuk analisis aktivitas antioksidan dengan menggunakan deteksi kolorimetri dengan *scanner desktop* dan bantuan *software ImageJ*. Kondisi optimum operasional sensor antioksidan berbasis kertas ini hanya memerlukan penggunaan volume sampel dan reagen dengan jumlah yang minim, yaitu 3 μ L dengan konsentrasi reagen DPPH optimal pada 5 mM.

Waktu respon yang diperoleh pada menit ke-12. Reagen sensor antioksidan berbasis kertas ini memiliki nilai batas deteksi (LOD) sebesar 0,0349 mM GAE dan bataskuantitasi (LOQ) sebesar 0,1164 mM GAE. Presisi yang dihasilkan pada sensor antioksidan berbasis kertas ini dapat dikatakan baik pada tiap sampel karena memperoleh nilai RSD < 2%. Akurasi yang dihasilkan pada sensor antioksidan berbasis kertas ini dilihat pada % *recovery* 97-103% dan simpangan *recovery* < 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. Waktu pakai pada sensor antioksidan berbasis kertas ini ditemukan stabil selama 3 hari ketika disimpan pada 2-4°C.

Sensor antioksidan berbasis kertas ini dapat diaplikasikan pada sampel ekstrak

tanaman dengan mereaksikan 3 μ L larutan sampel kedalam reagen DPPH 3 μ L yang kemudian diamati perubahan intensitas warna pada waktu respon menit ke-12 dan kadar sampel yang diperoleh dinyatakan dalam GAE (*Gallic Acid Equivalent*)

Daftar Pustaka

- [1] Assis RQ, Andrade KL, Emanoela L, Batista G, Rios ADO, Dias DR, Ndiaye EA, dan De Souza EC. Characterization of Mutamba (*Guazuma ulmifolia* Lam.) Fruit Flour and Development of Bread. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019. 101120.
- [2] Carrilho E, Phillips ST, Vella SJ, Martinez AW, dan Whitesides GM. Paper Microzone Plates. *Analytical Chemistry*. 2009. 81(15):5990–5998.
- [3] Gomes S dan Rebelo MJF. A New Laccase Biosensor for Polyphenols Determination. *Sensors*. 2003. 3:166–175.
- [4] Halliwell B. dan Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Fifth Edition. Oxford: Oxford University Press. 2015.
- [5] Harmita. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode Dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2004. 1(3):117–135.
- [6] Hidayat MA, Fitri A, dan Kuswandi B. Scanometry As Microplate Reader for High Throughput Method Based on DPPH Dry Reagent for Antioxidant Assay. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2017. 7(3):395–400.
- [7] Hidayat MA, Sari P, dan Kuswandi B. Simple Scanometric Assay Based on DPPH Immobilized on Pharmaceutical Blister for Determination of Antioxidant Capacity in The Herbal Extracts. *Pharmaceutical Journal*. 2018. 22(3):450–459.
- [8] Huang SS, Deng JS, Chen HC, Lin YH, dan Huang GJ. Antioxidant Activities of Two Metallothionein-Like Proteins from Sweet Potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam. "Tainong 57") Storage Roots and Their Synthesized Peptides. *Botanical Studies*. 2014. 55(1):1–9.
- [9] Irvibulkovit KS, Ouanthavong SN, dan Ameenoi YS. Paper-Based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis. *Analytical Science*. 2018. 34(July):795–800.
- [10] Ismail A, Marjan ZM, dan Foong CW. Total Antioxidant Activity and Phenolic Content in Selected Vegetables. *Food Chemistry*. 2004. 87(4):581– 586.
- [11] Mandal S, Yadav S, Sunita Yadav, dan Nema RK. Antioxidants: a review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2009. 1(1):102– 104.
- [12] Sari AN. Antioksidan Alternatif Untuk Menangkal Bahaya Radikal Bebas Pada Kulit. *Journal of Islamic Science and Technology*. 2015. 1(1):63–68.
- [13] Vilanova CDDA, Pereira RP, Reetz LGB, Oliveira L, Farias ILG, Boligon AA, dan

Athayde ML. Antioxidant Effects of *Phyllanthus niruri* Tea on Healthy Subjects. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2014. 113–118.

[14] Yuwono M. dan IndrayantoG. Validation of Chromatographic Methods of Analysis. *Profiles of Drug Substances, Excipients, And Related Methodology*. 2005. 32(05).