

KOLORIMETRI BERBASIS SMARTPHONE UNTUK UJI ANTIOKSIDAN EKSTRAK TEH MENGGUNAKAN METODE FERRIC REDUCING ANTIOXIDANT POWER (FRAP)

AGIS ANDRIYANI¹, DIAN SEPTIANI PRATAMA¹, DIKY HIDAYAT^{1*}, DAN NOVIANY¹

¹Universitas Lampung, Lampung, Indonesia

*alamat email korespondensi: agisandriyani@gmail.com

Informasi Artikel

Abstrak/Abstract

Kata Kunci: uji antioksidan; kolorimetri berbasis smartphone; spektrofotometri UV-Vis; ekstrak teh; FRAP.

Dalam beberapa dekade terakhir, perhatian terhadap aktivitas antioksidan dari berbagai sumber alami termasuk tanaman semakin meningkat. Pengukuran antioksidan menggunakan spektrofotometri UV-Vis telah lama diakui sebagai metode standar dalam analisis kimia. Namun, keterbatasan dalam hal aksesibilitas dan biaya peralatan sering kali menjadi kendala bagi peneliti di lapangan. Maka, dibutuhkan metode baru dalam pengujian antioksidan yang sederhana, cepat, dan murah. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari dan mendapatkan informasi unjuk kerja kolorimetri berbasis smartphone untuk analisa antioksidan pada sampel ekstrak teh komersil menggunakan metode ferric reducing antioxidant power (FRAP). Uji potensi antioksidan ekstrak teh komersil dibandingkan terhadap potensi antioksidan asam askorbat. Unjuk kerja metode analisis meliputi uji linearitas, presisi, akurasi, LoD, dan LoQ. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode kolorimetri berbasis smartphone memiliki unjuk kerja yang baik yakni linearitas 0,996; presisi 0,056%; akurasi 1,0% error, LoD 0,102 ppm; dan LoQ 0,34 ppm. Dari hasil perbandingan antara metode spektrofotometri UV-Vis dengan kolorimetri yang diperoleh tidak ada perbedaan signifikan antara mean kedua metode yang dihitung secara statistik melalui uji mean (uji T) dan uji varian (uji F). Dengan ini, kolorimetri menawarkan kemudahan pengukuran dalam analisis, terutama ketika dikombinasikan dengan teknologi modern seperti smartphone. Kolorimetri berbasis smartphone memiliki potensi sebagai metode analisis antioksidan yang efektif dan efisien.

Keywords: antioxidant assay; smartphone-base colorimetry; spectrophotometry UV-Vis; tea extract; FRAP

In recent decades, attention has increased on the antioxidant activity of various natural sources, including plants. Antioxidant measurement using UV-Vis spectrophotometry has long been recognized as a standard method in chemical analysis. However, limitations in accessibility and equipment cost often hinder researchers in the field. Therefore, new methods for antioxidant testing are needed that are simple, rapid, and inexpensive. This study aimed to study and obtain information on the performance of smartphone-based colorimetry for antioxidant analysis in commercial tea extract samples using the ferric reducing antioxidant power (FRAP) method. The antioxidant potential of commercial tea extract was compared with the antioxidant potential of ascorbic acid. The analytical method's performance included linearity, precision, accuracy, LoD, and LoQ. The results showed that the smartphone-based colorimetric method performed well, with a linearity of 0.996; a precision of 0.056%; an accuracy of 1.0% error, a LoD of 0.102 ppm; and a LoQ of 0.34 ppm. The comparison between UV-Vis spectrophotometry and colorimetry revealed no significant difference between the means of the two methods, calculated statistically using the mean test (T-test) and variance test (F-test). This suggests that colorimetry offers ease of measurement in analysis, especially when combined with modern technology such as smartphones. Smartphone-based colorimetry has the potential to be an effective and efficient antioxidant analysis method.

PENDAHULUAN

Dengan meningkatnya minat masyarakat terhadap gaya hidup sehat, penelitian mengenai kandungan dan efektivitas antioksidan dari makanan maupun minuman terus berkembang. Berbagai metode analisis digunakan untuk mengukur kapasitas antioksidan, sehingga dapat

memberikan informasi yang lebih akurat mengenai kesehatan. Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) adalah salah satu teknik analisis yang paling umum digunakan untuk mengukur tingkat aktivitas antioksidan dalam suatu sampel. Teknik ini bekerja berdasarkan prinsip bahwa senyawa antioksidan

mampu mereduksi ion besi dalam keadaan oksidasi +3 (Fe^{3+}) menjadi bentuk yang lebih rendah, yaitu ion besi dalam keadaan +2 (Fe^{2+}).

Pada penelitian sebelumnya pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometri UV-Vis telah lama diakui sebagai metode standar dalam analisis kimia. Namun, keterbatasan dalam hal aksesibilitas dan biaya peralatan sering kali menjadi kendala bagi peneliti di lapangan [1]. Metode analisis kimia yang sederhana, murah, dan mudah diaplikasikan sangat menarik untuk digunakan dalam evaluasi kapasitas antioksidan ekstrak bahan alam. Salah satu metode yang telah berkembang untuk mengukur kapasitas antioksidan adalah kolorimetri.

Kolorimetri menawarkan kemudahan dalam pengukuran dan analisis, terutama ketika dikombinasikan dengan teknologi modern seperti smartphone. Kolorimetri berbasis smartphone semakin populer karena kemudahan penggunaan, biaya rendah, serta kemampuan untuk memberikan hasil yang cepat dan akurat. Dengan karakteristik ini, kolorimetri berbasis smartphone berpotensi menjadi alternatif efisien untuk analisis warna dan konsentrasi zat dalam larutan diberbagai bidang [2].

EKSPERIMEN

Material

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan bahan kimia for analysis grade (p.a.) yaitu asam askorbat (Merck), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck), 2,4,6-Triz (2 Pyridyl)-s-Triazine (TPTZ) for spectrophotometric det. Fe >98% (Sigma Aldrich), Asam asetat tri hidrat ($\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) (Merck), CH_3COOH (Pudak Scientific), akuades, dan teh celup komersil dengan komposisi teh hitam dengan merk a yang diproduksi oleh PT Unilever Indonesia TBK.

Instrumen Spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu UV-1708) dan kolorimetri berbasis smartphone dilakukan dengan menggunakan android merk Oppo tipe A12 dan software spotxel reader version 2.2.3 oleh SICASYS software GmbH.

Prosedur

Pembuatan Larutan Standar Asam Askorbat

Larutan standar induk atau baku induk asam askorbat 1000 ppm disiapkan dengan cara

menimbang asam askorbat sebanyak 0,1gram menggunakan timbangan analitik kemudian dimasukkan dalam gelas beaker kemudian dilarutkan dengan aquades 25 ml, diaduk hingga larut dan dimasukkan ke labu ukur 100,0 mL kemudian ditambahkan aquades sampai tanda batas, lalu dihomogenkan.

Pembuatan Larutan Kerja

Larutan baku kerja untuk kurva kalibrasi dibuat dari larutan induk Asam Askorbat 1000 ppm untuk konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 pmm, dan 100 ppm. Pengenceran dilakukan dengan rumus $M_1 V_1 = M_2 V_2$.

Pembuatan Larutan Buffer Asetat pH 3,6

Larutan buffer asetat pH 3,6 dibuat dengan cara memasukkan ke dalam labu ukur 100 ml larutan asam asetat 1,32 mL dan 0,1436 g sodium asetat yang dilarutkan menggunakan 25 mL aquades. Kemudian ditambahkan aquades sampai tanda tera dan dihomogenkan. Cek pH larutan menggunakan pH meter.

Pembuatan Larutan FRAP

Larutan 2,4,6-Triz (2 Pyridyl)-s-Triazine (TPTZ) 10 mM dibuat dengan cara menimbang 0,0781 g TPTZ dan dilarutkan dalam 25 mL HCl 40 mM. Larutan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 mM dibuat dengan cara menimbang 0,135 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dan dilarutkan dalam 25 ml aquades. Kemudian campurkan 1 mL larutan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 mM dan 1 ml larutan TPTZ 10 mM dalam labu ukur 100 mL lalu, ditambahkan larutan buffer asetat pH 3,6 sampai tanda tera. Larutan ini disimpan dalam botol gelap. Ketika akan digunakan larutan dipanaskan pada temperatur 37°C.

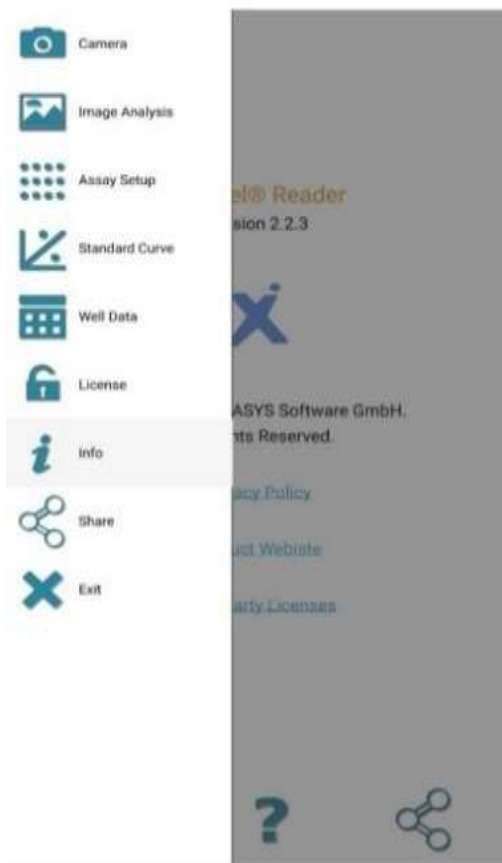
Pembuatan Ekstrak Teh

Sebanyak 1,4 gram teh ditimbang menggunakan neraca analitik. Kemudian diekstrak menggunakan 250 mL aquades yang sudah dipanaskan sampai suhu 100°C selama 5 menit untuk memastikan ekstraksi senyawa aktif yang optimal. Kemudian disaring menggunakan kertas saring.

Uji Antioksidan Pada Ekstrak Teh Menggunakan Kolorimeter Berbasis Smartphone

Uji antioksidan dilakukan terhadap larutan standar dan larutan sampel ekstrak teh.

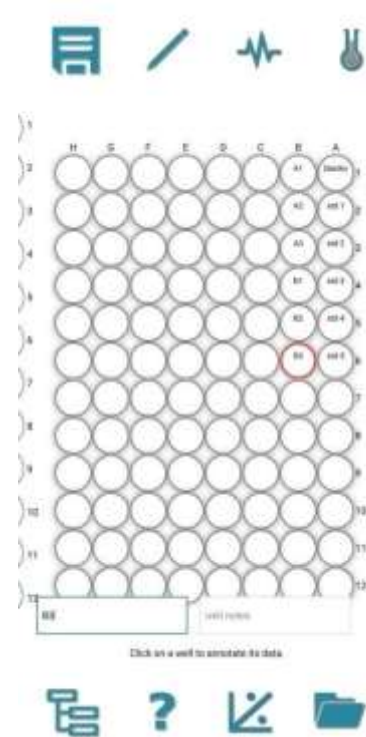
Larutan standar dan sampel masing-masing 0,15 mL dimasukkan ke tabung reaksi. Kemudian, ditambahkan sebanyak 2,85 mL reagen FRAP dan dihomogenkan. Setelah itu larutan dipepet 0,33 mL ke *microplate* 96 well dan diinkubasi selama 30 menit pada temperatur ruang dan kondisi tertutup dan gelap. Larutan dianalisa menggunakan aplikasi kolorimetri berbasis smartphone (*spotxel reader*) yang dapat dilihat pada **Gambar 1**. Penting untuk memperhatikan pencahayaan dan sudut pengambilan gambar agar warna larutan dapat terdeteksi dengan jelas dan akurat.



Gambar 1. Aplikasi spotxel reader pada smartphone.

a. *Setting* untuk keterangan disetiap sampel yang akan diuji

Bagian assay setup pada aplikasi digunakan untuk memberikan keterangan pada setiap *microplate* 96 well sesuai dengan masing-masing larutan standar dan larutan sampel (**Gambar 2**). Dengan demikian, dapat dipastikan bahwa data yang diperoleh dari *Spotxel Reader* dapat diinterpretasikan dengan benar, serta memudahkan dalam menganalisis hasil analisis.



Gambar 2. *Setting* yang digunakan pada aplikasi *spotxel*.

b. Kemudian klik ikon *camera* pada aplikasi (**Gambar 3**) dan arahkan langsung pada *microplate* 96 well yang telah disiapkan



Gambar 3. *Icon* kamera pada aplikasi *spotxel*.

Letakkan microplate 96 well di bawah kamera smartphone dan pilih opsi untuk mengambil gambar microplate. Kamera diarahkan ke microplate 96 well, pastikan seluruh microplate terlihat jelas pada layar smartphone, dan pastikan kamera terfokus pada microplate sehingga gambarnya jelas. Dengan demikian, aplikasi Spotxel dapat memproses gambar dan menganalisis hasil berdasarkan assay setup yang telah diatur sebelumnya, sehingga dapat memperoleh hasil analisis yang akurat dan tepat.

- c. Data analisis akan muncul dalam bentuk signal dan konsentrasi, data disimpan dalam bentuk file csv (**Gambar 4**).

Row	Col.	Na...	Signal	Conc. ...	Notes
C	10		21.55		
C	11		22.27		
C	12		22		
B	1		20.63		
B	2		20.8		
B	3		21.31		
B	4		22.05		
B	5		22.25		
B	6		22.12		
B	7		21.9		
B	8		21.35		
B	9		22.64		
B	10		22.12		
B	11		22.4		
B	12		20.87		
A	1		20.66		
A	2		20.84		
A	3		21.38		
A	4		22.17		
A	5		22.43		
A	6		22.34		
A	7		22.34		
A	8		21.73		
A	9		21.76		
A	10		21.57		
A	11		21.83		
A	12		20.54		

Gambar 4. Data yang diperoleh pada aplikasi *spotxel*.

Setelah proses analisis selesai, data hasil analisis akan muncul dalam bentuk signal dan konsentrasi pada aplikasi Spotxel Reader. Data signal ini merupakan hasil pengukuran langsung dari microplate, sedangkan konsentrasi merupakan hasil perhitungan berdasarkan kurva standar yang telah diatur sebelumnya. Data ini dapat disimpan dalam bentuk file CSV (Comma

Separated Values) yang dapat dibuka dan diolah lebih lanjut menggunakan perangkat lunak spreadsheet seperti Microsoft Excel. Dengan demikian, dapat dilakukan analisis lanjutan, membuat grafik, dan membandingkan hasil analisa dengan lebih mudah dan fleksibel.

Validasi Metode Kolorimetri Berbasis Smartphone

Linearitas

Linearitas ditentukan dengan membuat kurva kalibrasi blanko dan larutan standar asam askorbat dengan variasi konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm. Data absorbansi dan konsentrasi standar asam askorbat diplot regresi linear untuk mendapatkan persamaan regresi linear dan nilai koefisien determinasi (R_2).

Presisi

Pada penentuan presisi digunakan larutan standar asam askorbat konsentrasi 60 ppm sebanyak 6 replikat standar. Setelah itu nilai absorbansi (signal) yang terukur diolah menjadi data konsentrasi menggunakan persamaan regresi linear. Data tersebut dihitung rata-rata, standar deviasi (SD), dan % standar deviasi relative (%RSD) dengan rumus $RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$.

Akurasi

Pada penentuan akurasi digunakan larutan standar asam askorbat konsentrasi 60 ppm sebanyak 6 replikat standar. Setelah itu nilai absorbansi (signal) yang terukur diolah menjadi data konsentrasi menggunakan persamaan regresi linear. Data tersebut dihitung rata-rata konsentrasi terukur dan dibandingkan dengan konsentrasi sesungguhnya untuk mengetahui %error dengan tingkat kepercayaan 95% menggunakan rumus $\bar{x} \pm t_{n-1} s/\sqrt{n}$.

Limit Deteksi (LoD) dan Limit Kuantifikasi (LoQ)

Pada penentuan LoD dan LoQ digunakan larutan standar asam askorbat konsentrasi 60 ppm sebanyak 6 replikat standar. Setelah itu nilai absorbansi (signal) yang terukur diolah menjadi data konsentrasi menggunakan rumus:

$$S = \pi \times (d/2) 2$$

Kemudian dihitung standar deviasi, LoD ($3 \times SD$), dan LoQ ($10 \times SD$).

Uji Antioksidan Pada Ekstrak Teh Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis Metode FRAP

Uji antioksidan dilakukan terhadap larutan standar dan larutan uji ekstrak teh sebanyak 0,15 ml dan masing- masing dimasukkan tabung reaksi. Kemudian, ditambahkan sebanyak 2,85 ml reagen FRAP. Setelah itu, tabung reaksi dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Untuk mendapatkan data panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) dilakukan *scanning* panjang gelombang terhadap salah satu larutan standar asam askorbat (80 ppm) dari panjang gelombang 500-750 nm. Data panjang gelombang maksimum yang diperoleh digunakan untuk pengukuran uji antioksidan pada standar dan sampel ekstrak teh. Untuk uji antioksidan metode FRAP diukur absorbansi standar dan sampel pada panjang gelombang maksimum 605 nm.

Perbandingan Uji Antioksidan Menggunakan Kolorimetri Berbasis Smartphone dan Spektrofotometri UV-Vis

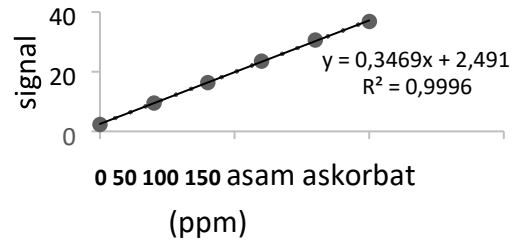
Hasil yang diperoleh dari uji antioksidan ekstrak teh menggunakan kolorimetri berbasis smartphone dan spektrofotometri UV-Vis dilakukan tes signifikansi terhadap nilai mean dan standar deviasi. Nilai rata-rata (mean) diuji menggunakan uji t dan standar deviasi kedua metode diuji dengan uji F Uji t dilakukan dengan membandingkan t hitung dengan t tabel, dengan rumus t hitung: $t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$ uji dilakukan dengan tingkat kepercayaan 95%. Uji F dilakukan dengan membandingkan F hitung dengan F tabel, dengan rumus F hitung: $F = \frac{S_1^2}{S_2^2}$ uji dilakukan dengan tingkat kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Validasi Metode

Linearitas

Uji antioksidan ekstrak teh menggunakan kolorimetri berbasis smartphone (**Gambar 5**) menunjukkan sensitivitas metode yang baik, terlihat dari perubahan konsentrasi standar mengakibatkan perubahan signal yang terukur.



Gambar 5. Penentuan Linearitas Asam Askorbat Kolorimetri Berbasis Smartphone.

Presisi

Dari data penelitian yang diperoleh pada **Tabel 1**, dapat diketahui bahwa presisi metode baik karena nilai %RSD = 0,056%, sesuai standar yang ditetapkan Eurachem termasuk memiliki presisi yang baik karena %RSD $\leq 1\%$.

Tabel 1. Penentuan presisi pada sampel.

Pengulangan	Signal	Konsentrasi		Nilai benar	E	%E
		Konsentrasi (ppm)	rata-rata (ppm)			
1	23,50	60,6	60,6	60	0,6	1,0
2	23,52	60,6				
3	23,50	60,6				
4	23,51	60,6				
5	23,53	60,6				
6	23,51	60,6				

Akurasi

Dari data diperoleh pada **Tabel 2**, %Error relative = 1% yang menunjukkan bahwa metode analisa antioksidan menggunakan kolorimetri berbasis *smartphone* memiliki nilai akurasi yang moderat (%E=1-5%).

Tabel 2. Penentuan akurasi pada sampel.

Pengulangan	Signal	Konsentrasi		Nilai benar	E	%E
		Konsentrasi (ppm)	rata-rata (ppm)			
1	23,50	60,6	60,6	60	0,6	1,0
2	23,52	60,6				
3	23,50	60,6				
4	23,51	60,6				
5	23,53	60,6				
6	23,51	60,6				

Limit Deteksi (LoD) dan Limit Kuantifikasi (LoQ)

Dari data diperoleh pada **Tabel 3**, nilai LoD sebesar 0,102 ppm dan LoQ sebesar 0,34 ppm yang artinya menunjukkan kemampuan metode untuk mengukur aktivitas antioksidan

dengan akurasi dan presisi yang baik karena memiliki nilai kurang dari 1 ppm sesuai standar yang ditetapkan Eurachem.

Tabel 3. Limit deteksi (LoD) dan limit kuantifikasi (LoQ).

Pengulangan	Signal	Konsentrasi (ppm)
1	23,50	60,562
2	23,52	60,620
3	23,50	60,562
4	23,51	60,591
5	23,53	60,649
6	23,51	60,591
Rata-rata		60,6
SD		0,034
LoD		0,102
LoQ		0,34

Berdasarkan hasil uji T untuk uji *mean* pada **Tabel 4**, diperoleh bahwa nilai t-hitung adalah 1,562, sedangkan nilai t-tabel pada tingkat kepercayaan 95% adalah 4,300. Karena nilai t-hitung lebih kecil dari nilai t-tabel, maka hipotesis diterima, yang berarti tidak terdapat perbedaan signifikan antara nilai *mean* kedua metode. Selanjutnya, pada uji F yang membandingkan varians, didapatkan nilai F-hitung sebesar 1,740, sementara nilai F-tabel pada tingkat kepercayaan 95% adalah 19. Karena nilai F-hitung lebih kecil dari nilai F-tabel, maka hipotesis juga diterima, yang mengindikasikan tidak ada perbedaan nyata antara varians metode tersebut.

Tabel 4. Kolorimetri berbasis *smartphone*.

Sampel	Spektrofotometri UV-Vis	Kolorimetri berbasis <i>Smartphone</i>
B1	87,717	87,678
B2	86,585	88,585
B3	86,385	86,862
Mean	87,0	87,7
Sd	0,65	0,86

SIMPULAN

Hasil yang diperoleh dari kolorimetri berbasis *smartphone* menunjukkan kesesuaian yang baik dan sebanding dengan hasil spektrofotometri UV-Vis, sehingga metode ini menjadi alternatif yang praktis dan andal untuk evaluasi aktivitas antioksidan pada ekstrak teh.

REFERENSI

- [1] Ngibad, K. 2023. Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolik, dan Kadar Flavonoid Total Daun Jati Cina (*Senna Alexandrinna*). *Lantanida Journal*. 11(1).
- [2] Purwanti, L., Dasuki, U.A., dan Imawan, A.R. 2020. Perbandingan Aktivitas Antioksidan dari Seduhan E Merk Teh Hitam (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze Dengan Metode Seduhan Berdasarkan SNI 01-1902-1995). *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*. 2(1). 19-25