

LAPORAN TUGAS AKHIR

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN *EDIBLE FILM* DARI
EICHORNIA CRASSIPES DENGAN VARIASI
PENAMBAHAN EKSTRAK BAWANG
PUTIH DAN DAUN SIRIH MERAH**

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh
derajat Ahli Madya Sains (A.Md.Si) Analisis Kimia
Program Studi DIII Analisis Kimia**



Disusun oleh:

Julianti

NIM : 20231065

**PROGRAM STUDI ANALISIS KIMIA PROGRAM DIPLOMA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA**

2025

LAPORAN TUGAS AKHIR

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN *EDIBLE FILM* DARI
EICHORNIA CRASSIPES DENGAN VARIASI
PENAMBAHAN EKSTRAK BAWANG
PUTIH DAN DAUN SIRIH MERAH**

***ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF EDIBLE FILM FROM
EICHORNIA CRASSIPES WITH VARIATIONS BY ADDING
GARLIC EXTRACT AND RED BELT LEAVES***



Disusun oleh:

Julianti

NIM : 20231065

**PROGRAM STUDI ANALISIS KIMIA PROGRAM DIPLOMA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA**

2025

HALAMAN PENGESAHAN

LAPORAN TUGAS AKHIR

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN *EDIBLE FILM* DARI
EICHORNIA CRASSIPES DENGAN VARIASI
PENAMBAHAN EKSTRAK BAWANG
PUTIH DAN DAUN SIRIH MERAH**

Dipersiapkan dan disusun oleh:

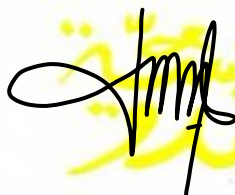
Julianti
NIM : 20231065

Telah disetujui oleh Dosen Pembimbing Tugas Akhir
Program Studi Analisis Kimia Program Diploma
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia
pada tanggal 31 Januari 2025

Menyetujui,

Ketua Program Studi

Pembimbing



Kuntari, S.Si., M.Sc.
NIK. 162310401



Tri Esti Purbaningtias, S.Si., M.Si.
NIK. 132311102

HALAMAN PENGESAHAN

LAPORAN TUGAS AKHIR

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN *EDIBLE FILM* DARI
EICHORNIA CRASSIPES DENGAN VARIASI
PENAMBAHAN EKSTRAK BAWANG
PUTIH DAN DAUN SIRIH MERAH**

Dipersiapkan dan disusun oleh:

Julianti
NIM : 20231065

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 31 Januari 2025


Susunan tim penguji

Pembimbing/Penguji



Tri Esti Purbaningtias, S.Si., M.Si.
NIK. 132311102

Penguji I



Bayu Wiyantoko, S.Si., M.Sc.
NIK. 132311101

Penguji II



Puji Kurniawati, S.Pd.Si., M.Sc.
NIK. 132311103

Mengetahui,
Dekan Fakultas MIPA UII



Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D.
NIK. 006120101



PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa Laporan Tugas Akhir ini tidak pernah terdapat bagian yang pernah digunakan untuk gelar *Ahli Madya Science* atau gelar lainnya di suatu Perguruan Tinggi dan sepengetahuan saya tidak terdapat bagian yang pernah ditulis dan diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka. Saya memperbolehkan sebagian pengutipan karya ini sebagai materi praktikum setelah penerbitan karya ini.

Yogyakarta, 31 Januari 2025



A handwritten signature in black ink, appearing to read "Julianti".

Julianti

MOTTO

"Sesungguhnya segala perbuatan itu tergantung pada niatnya, dan setiap orang akan mendapatkan apa yang diniatkannya" (HR Bukhari dan Muslim)

وَإِذْ تَأْتِيَنَّكُمْ رِيبَةٌ مِنْ رَبِّكُمْ لَبَسْنَا لَكُمْ فِيهَا شُكْرًا وَلَئِنْ لَبَسْنَا لَكُمْ فِيهَا نِفَسًا وَاللَّهُ يُخَوِّفُ لِمَا يَشَاءُ إِنَّ رَبَّهُ كَانَ لِشُدَيْدٍ

“Dan (ingatlah juga), tatkala Tuhanmu memaklumkan; "Sesungguhnya jika kamu bersyukur, pasti Kami akan menambah (nikmat) kepadamu, dan jika kamu mengingkari (nikmat-Ku), maka sesungguhnya azab-Ku sangat pedih"

(QS.Ibrahim [14]:7)

جد كل الجد وافرح الجدل

Bersungguh-sungguhlah dengan segala kesungguhan dan bergembiralah dengan sebenar-benar gembira

(Alfiyyah Ibn Malik : 289)

HALAMAN PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ

Rasa syukur yang saya haturkan kepada Allah SWT atas berkah, rahmat, hidayah serta pertolongan-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan masa perkuliahan ini hingga Tugas Akhir serta mendapat gelar Ahli Madya Sains (Amd.Si). Karena-Nya saya menjadi pribadi yang dapat berfikir, berilmu, beriman, bersyukur, bersabar dan belajar untuk ikhlas hingga detik ini. Semoga gerbang perjalanan ini menjadi salah satu langkah awal saya untuk dapat menjadi manusia yang lebih baik lagi dan dapat mempertanggungjawabkan segala hal yang saya peroleh dan saya dapat bermanfaat untuk sesama.

Karya sederhana ini saya persembahkan untuk orang-orang luar biasa yang saya cintai yaitu keluarga saya, Bapak dan Ibu dosen serta teman-teman almamater tercinta Universitas Islam Indonesia dan PP. Inayatullah. Terima kasih atas doa, dukungan, semangat dan motivasi yang telah diberikan selama ini.

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

Syukur *Alhamdulillah* penulis sampaikan kepada Allah SWT. Segala puji syukur kepada-Nya atas segala rahmat dan karunia yang telah diberikan kepada penulis sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik sesuai dengan waktu dan rencana yang diharapkan.

Sholawat berangkaikan salam kepada Baginda Rasulullah SAW. sebagai *uswatun hasanah* bagi seluruh umat. Semoga kita termasuk umat yang senantiasa mengamalkan sunnah-sunnah beliau.

Laporan tugas akhir yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan *Edible Film* dari *Eichornia crassipes* dengan Variasi Penambahan Ekstrak Bawang Putih dan Daun Sirih Merah”, disusun untuk melengkapi persyaratan guna memperoleh gelar *Ahli Madya Science (A.Md.Si)* dalam Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Yogyakarta.

Laporan tugas akhir ini disusun penulis dengan mengalami banyak hambatan. Berkat pengarahan, bimbingan, bantuan dan kemudahan yang diberikan pembimbing sehingga semua masalah dapat diatasi dengan baik.

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada berbagai pihak, diantaranya:

1. Allah SWT. yang telah memberikan penulis berbagai nikmat seperti kesehatan, keselamatan, kelapangan waktu dan banyak lagi nikmat yang lain sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal ini dengan baik.
2. Prof. Fathul Wahid, S.T., M.Sc. selaku Rektor Universitas Islam Indonesia Yogyakarta.
3. Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Yogyakarta.
4. Prof. Dr. Is Fatimah S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Yogyakarta.

5. Kuntari, S.Si., M.Sc. selaku Ketua Program Studi D III Analisis Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Yogyakarta.
6. Tri Esti Purbaningtias, S.Si., M.Si. sebagai Dosen Pembimbing tugas akhir yang telah banyak membimbing dan mengarahkan penulis selama mengerjakan laporan tugas akhir ini.
7. Kuntari, S.Si., M.Sc. sebagai penasehat Akademik yang selama ini telah memberikan bimbingan dan arahan sehingga penulis dapat menjalani studi akademik di Universitas Islam Indonesia Yogyakarta dengan baik.
8. Dosen dan Staff Program Studi D III Analisis Kimia FMIPA UII atas semua nasihat dan ilmu yang diberikan.
9. Laboran dan Asisten Laboratorium Kimia Terpadu FMIPA UII atas semua nasihat dan ilmu yang diberikan.

Penulis telah berupaya semaksimal mungkin menyelesaikan skripsi ini, namun penulis menyadari masih banyak kelemahan baik dari segi isi maupun tata bahasa, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca demi sempurnanya tugas akhir ini. Penulis berharap agar laporan ini bermanfaat bagi penulis dan memperkaya khasanah dunia pendidikan.

Yogyakarta, 31 Januari 2025

Penyusun,



Julianti

DAFTAR ISI

LAPORAN TUGAS AKHIR.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II DASAR TEORI	5
2.1 <i>Edible Film</i>	5
2.2 Ekstraksi	7
2.3 Antioksidan	8
2.4 Validasi Metode Spektrometri.....	10
BAB III METODOLOGI.....	12
3.1 Alat	12
3.2 Bahan.....	12
3.3 Cara Kerja.....	12
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	17
4.1 Karakteristik Fisik <i>Edible Film</i>	17
4.2 Penetapan Nilai IC ₅₀	18
4.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan.....	19
4.3.1 Parameter Uji Validasi Spektrofotometri.....	20
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	27
5.1 Kesimpulan.....	27
5.2 Saran.....	27
DAFTAR PUSTAKA ..	29
LAMPIRAN.....	33

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Analisis Warna dan Bau.....	18
Tabel 4.2 Absorbansi dan Persen Inhibisi Sampel.....	19
Tabel 4.3 Data Penentuan LoD dan LoQ.....	22
Tabel 4.4 Hasil Analisis Kadar Antioksidan.....	23
Tabel 4.5 Data Penentuan Akurasi Sampel.....	24

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Data Komposisi Sampah berdasarkan Jenis Sampah (SIPSN, 2021) .	5
Gambar 4.1 Bentuk Fisik <i>Edible Film</i>	17
Gambar 4.2 Kurva Standar Asam Askorbat.....	21
Gambar 4.3 Reaksi DPPH dengan Antioksidan (Molyneux, 2004).....	21
Gambar 4.4 Diagram Tulang Ikan	25
Gambar 4.5 Grafik Nilai Ketidakpastian	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM	33
Lampiran 2 Pembuatan Larutan Pembanding Asam Askorbat	33
Lampiran 3 Parameter Uji Validasi.....	33
Lampiran 4 Pembuatan Larutan Seri Asam Askorbat untuk Uji IC ₅₀	56
Lampiran 5 Penentuan % Inhibisi	58

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN *EDIBLE FILM* DARI *EICHORNIA
CRASSIPES* DENGAN VARIASI PENAMBAHAN EKSTRAK
BAWANG PUTIH DAN DAUN SIRIH MERAH**

Julianti

Program Studi D III Analisis Kimia FMIPA Universitas Islam Indonesia

Jl. Kaliurang Km 14,5 Yogyakarta

Email: 20231065@gmail.com

INTISARI

Edible film eceng gondok merupakan lapisan tipis dari eceng gondok yang dapat dikonsumsi serta dapat terdegradasi oleh alam. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kadar antioksidan serta validasi metode penentuan kadar antioksidan *edible film* secara spektrofotometri UV-Vis dengan penambahan ekstrak bawang putih, daun sirih merah serta tanpa penambahan ekstrak. Aktivitas antioksidan diuji dengan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) dan diukur absorbansi dengan alat spektrofotometer UV-Vis. Data dianalisis dengan menghitung persen aktivitas antioksidan yang diperoleh dari data absorbansi masing-masing sampel kemudian dilakukan perhitungan nilai IC_{50} menggunakan persamaan regresi linear secara substitusi $y = ax + b$ yang menyatakan hubungan antara log konsentrasi dengan persen aktivitas antioksidan (inhibisi). Hasil IC_{50} dari *edible film* tanpa penambahan ekstrak sebesar 169,13 ppm dan termasuk ke dalam kategori antioksidan yang lemah sedangkan hasil nilai IC_{50} untuk *edible film* dengan ekstrak bawang putih dan daun sirih merah berada pada rentang 1,80 ppm – 16,30 ppm dan masuk ke dalam kategori antioksidan yang sangat kuat. Hasil validasi metode penentuan kadar antioksidan *edible film* secara spektrofotometri UV-Vis parameter linearitas, limit deteksi, presisi, akurasi serta ketidakpastian menunjukkan bahwa metode penentuan kadar antioksidan sudah sesuai dengan syarat keberterimaan validasi metode spektrofotometri UV-Vis parameter linearitas dengan koefisien korelasi $\geq 0,995$, nilai LoD lebih kecil dari nilai LoQ dan nilai LoQ lebih kecil dari nilai konsentrasi sampel, presisi (nilai RPD) $\leq 10\%$, akurasi (nilai *Recovery*) berada pada rentang 80-110% serta nilai ketidakpastian yang diperoleh tidak melebihi batas maksimum ketidakpastian pengukuran yaitu $<30\%$.

Kata kunci : *Edible film*, eceng gondok, bawang putih, sirih merah, ekstraksi

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Plastik merupakan suatu benda yang tidak dapat dilepaskan dari kehidupan sehari-hari dan juga salah satu penyumbang sampah terbesar di dunia. Menurut Sistem Informasi Pengolahan Sampah Nasional Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan (SIPSN MENLHK) pada tahun 2021 jenis sampah plastik menempati urutan ketiga yaitu 17,7% (SIPSN, 2021). Sampah plastik memiliki rentang waktu yang lama dalam proses penguraiannya di alam. Sampah plastik ini banyak digunakan untuk kemasan pada bahan pangan dan masih bersifat *nonbiodegradable* (Putrawan, 2022). Salah satu upaya untuk mengurangi mengatasi permasalahan ini yaitu dengan menggunakan kemasan *biodegradable* yang terbuat dari bahan alami. Pengemas *biodegradable* ini termasuk ke dalam *edible film* karena berdasarkan sifat mekaniknya dapat menggantikan plastik *nonbiodegradable* (Sinaga & Sinaga, 2013).

Edible Film merupakan kemasan lapis tipis yang berfungsi untuk melapisi suatu bahan pangan yang aman dikonsumsi dengan tujuan untuk memperpanjang masa simpan, menjadikan kualitas makanan lebih baik, meningkatkan efisiensi ekonomis serta dapat menghambat adanya perpindahan uap air (Krochta & Mulder-Johnston, 1997). *Edible film* terbuat dari bahan polimer yang terdiri atas tiga golongan, yaitu hidrokoloid (protein, polisakarida, alginat), lipid (asam lemak, asilgliserol, wax atau lilin) dan komposit (campuran antara hidrokoloid dan lipid) (Fennema *et al.*, 1994). Salah satu tanaman yang bisa digunakan yaitu eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) yang memiliki sifat serat yang kuat dengan kandungan 60% selulosa, 8% hemiselulosa dan 17 % lignin. Kandungan selulosa yang tinggi dapat digunakan sebagai komponen dasar pembuatan *edible film* (Abdel-Fattah & Abdel-Naby, 2012). *Edible film* dengan bahan baku selulosa memiliki karakteristik yang unik, yaitu mudah terdegradasi dalam tanah karena kemampuan interaksi dengan air dan mikroorganisme tanah menurut (Hidayati *et al.*, 2015). Pada pembuatan *edible film* ditambahkan ekstrak bawang putih yang

mempunyai aktivitas antimikroba (senyawa sulfur alisin) yang menghambat aktivitas enzim yang mengandung tiol dari bakteri (Aydin *et al.*, 2007) dan daun sirih merah yang mengandung flavonoid yang bersifat antioksidan, mengandung senyawa antibakteri seperti tanin, flavonoid, polifenol dan saponin (Heliawati *et al.*, 2022). Peneliti sebelumnya menyebutkan bahwa kadar antioksidan yang dimiliki eceng gondok sebesar 254,66 ppm (aktivitas antioksidan sangat lemah) (Elvira *et al.*, 2018), sedangkan untuk bawang putih memiliki rentang 10,61-13,61 ppm (aktivitas antioksidan sangat kuat) (Prasonto *et al.*, 2017) dan daun sirih merah sebesar 47,45 ppm (aktivitas antioksidan sangat kuat) (RATTE, 2021). Senyawa antioksidan berperan untuk menahan reaksi oksidasi karena dapat memutus rantai reaksi oksidasi dan menstabilkan senyawa radikal hasil oksidasi yang dapat meminimalkan proses respirasi sehingga kualitas dan daya simpan makanan menjadi lebih lama (Sudewo, 2010). *Edible film* memiliki aktivitas antioksidan yang dipengaruhi oleh kandungan senyawa antioksidan dan kemampuan untuk mereduksi radikal bebas (Kusumawati & Putri, 2013). *Edible film* yang ditambahkan senyawa antioksidan dapat diaplikasikan pada produk makanan karena dapat langsung dimakan dan dapat membantu mencegah penurunan kualitas makanan terutama untuk mencegah ketengikan (Nuansa *et al.*, 2017).

Edible film pada penelitian ini dibuat dengan ekstrak bawang putih dan daun sirih merah dengan metode maserasi yaitu ekstraksi zat aktif yang dilakukan dengan merendam serbuk dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada temperatur kamar (Damayanti *et al.* 2012). Metode ini dipilih karena prosedur yang sederhana serta dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Katuuk *et al.*, 2019). Uji antioksidan dilakukan dengan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) yang sederhana, mudah, cepat, sensitif terhadap senyawa bahan alam dan sampel yang dibutuhkan sedikit (Al Ridho, 2013). Sampel juga dilakukan validasi metode yaitu metode spektrofotometri dengan alat spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang tertentu yang bertujuan untuk mengetahui bahwa metode tersebut sesuai. Parameter pengujian ini meliputi linearitas, *Limit of Detection* (LoD) dan *Limit of Quantitation* (LoQ), presisi, akurasi serta estimasi ketidakpastian.

1.2. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Berapa nilai IC_{50} *edible film* berbahan dasar eceng gondok dengan ekstrak bawang putih, daun sirih merah, bawang putih dan daun sirih merah serta tanpa penambahan ekstrak?
2. Bagaimana perbandingan kandungan antioksidan *edible film* berbahan dasar eceng gondok dengan ekstrak bawang putih, daun sirih merah, bawang putih dan daun sirih merah serta tanpa penambahan ekstrak?
3. Bagaimana validasi metode penentuan antioksidan *edible film* secara spektrofotometri UV-Vis dengan parameter linearitas, limit deteksi, presisi, akurasi serta ketidakpastian dari *edible film* berbahan dasar eceng gondok dengan ekstrak bawang putih, daun sirih merah, bawang putih dan daun sirih merah serta tanpa penambahan ekstrak?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui nilai IC_{50} *edible film* berbahan dasar eceng gondok dengan ekstrak bawang putih, daun sirih merah, bawang putih dan daun sirih merah serta tanpa penambahan ekstrak.
2. Mengetahui kandungan antioksidan *edible film* berbahan dasar eceng gondok dengan ekstrak bawang putih, daun sirih merah, bawang putih dan daun sirih merah serta tanpa penambahan ekstrak?
3. Mengetahui validasi metode penentuan antioksidan *edible film* secara spektrofotometri UV-Vis dengan parameter linearitas, limit deteksi, presisi, akurasi serta ketidakpastian dari *edible film* berbahan dasar eceng gondok dengan ekstrak bawang putih, daun sirih merah, bawang putih dan daun sirih merah serta tanpa penambahan ekstrak.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian yang dilakukan diharapkan dapat memberikan manfaat, antara lain:

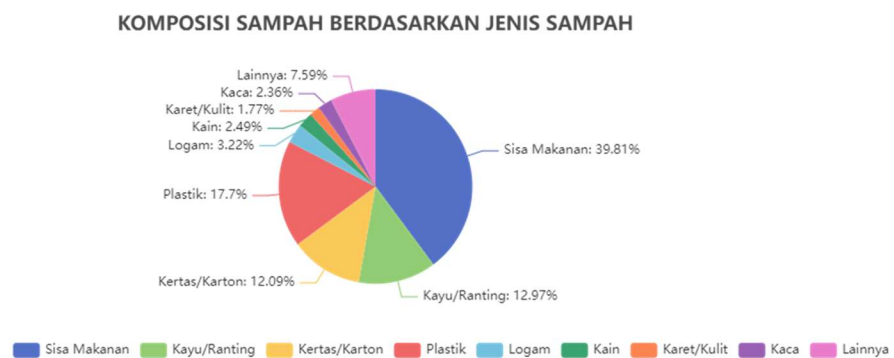
1. Penelitian ini dapat meningkatkan nilai guna eceng gondok sebagai pengemas ramah lingkungan.
2. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi alternatif kemasan ramah lingkungan yang dapat meningkatkan mutu produk pangan.
3. Penelitian ini diharapkan dapat mengurangi pencemaran lingkungan serta dapat bermanfaat untuk lingkungan sekitar.

BAB II

DASAR TEORI

2.1 *Edible Film*

Edible film merupakan suatu lapisan tipis yang berfungsi untuk melapisi suatu bahan pangan yang terbuat dari bahan yang layak untuk dikonsumsi. *Edible film* digunakan sebagai pengganti plastik yang sulit terurai di alam dan menempati posisi ketiga yaitu sebesar 17,7%.



Gambar 2. 1 Data Komposisi Sampah berdasarkan Jenis Sampah (SIPSN, 2021)

Edible film digunakan dengan cara pembungkusan atau meletakkan di antara komponen makanan dengan tujuan memperpanjang masa simpan, kualitas makanan lebih baik, meningkatkan efisiensi ekonomis serta menghambat adanya perpindahan uap air (Krochta & Mulder-Johnston, 1997).

Edible film tersusun atas komponen dasar yang terdiri dari hidrokoloid dan lemak. Hidrokoloid yang terdiri dari polisakarida (pektin, alginat, karagenan, gum arabic, xanthan dan kitosan) dan protein (turunan dari *zein* jagung, gandum, gluten, *whey*, kasein, kolagen, gelatin, protein, susu dan ikan) (Astuti & Erprihana, 2014). Keunggulan dari bahan dasar hidrokoloid antara lain mampu menghambat perpindahan oksigen dan memperbaiki struktur *edible film* agar tidak mudah rapuh. Polisakarida juga dapat dimanfaatkan sebagai pengatur udara sekitarnya dan memberikan ketebalan atau kekentalan pada larutan *edible film* sehingga memiliki kemampuan mekanik yang baik dan tidak mudah hancur (McHUGH *et al.*, 1994). Lipid pada *edible film* memiliki fungsi sebagai penghambat uap air atau pelapis untuk meningkatkan kilap pada produk tetapi penggunaannya sangat terbatas karena dapat menghasilkan struktur film yang kurang baik (Fennema *et al.*, 1994).

Edible film mempunyai karakteristik fisik dan kimia. Karakteristik fisik *edible film* ini terdiri dari ketebalan, *elongasi*, kuat tarik dan kelarutan sedangkan sifat kimia *edible film* meliputi kadar air, antioksidan, total fenolik dan uji *Fourier Transmission Infra-Red* (FTIR).

Antioksidan dalam industri pangan sangat efektif dalam menghambat reaksi oksidasi lemak sehingga dapat mencegah terjadinya ketengikan produk. Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional. Senyawa antioksidan alami polifenolik dapat bereaksi sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pengkelat logam, peredam terbentuknya singlet oksigen. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, kateksin, flavonol dan kalkon. Sementara turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat dan lain-lain (Pokorny & Korczak, 2001). Golongan flavonoid dan senyawa yang berkaitan erat dengannya memiliki sifat-sifat antioksidan baik di dalam lipida cair maupun dalam makanan berlipida (Rahayu *et al.*, 2015).

Eceng gondok digunakan sebagai bahan pembuatan *edible film* karena memiliki kandungan selulosa yang tinggi dan protein yang lebih dari 11%. Eceng gondok mengandung komponen serat sebesar 72,63% selulosa, 8% hemiselulosa dan 17% lignin (Abdel-Fattah & Abdel-Naby, 2012). Tanaman eceng gondok memiliki manfaat umum sebagai produksi etanol, produksi enzim jamur, penghapusan logam berat, fitoremediasi, produksi biogas sebagai pupuk organik (Tovar-Jiménez *et al.*, 2019). *Edible film* dari bahan baku yang mengandung selulosa memiliki sifat kaku dan kuat menurut (Kalsum *et al.*, 2020) sehingga perlu ditambahkan *plasticizer* yaitu gliserol yang mampu meningkatkan sifat mekanik *film* seperti fleksibilitas (elastisitas) dan permeabilitas *film* terhadap gas, uap air, gas terlarut serta berpengaruh terhadap kehalusan permukaan *film* yang dihasilkan (Wirjosentono, 2009).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan suatu zat dari campurannya dengan pembagian sebuah zat terlarut antara dua pelarut yang tidak dapat tercampur untuk mengambil zat terlarut tersebut dari satu pelarut ke pelarut yang lain. Ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa metode seperti maserasi, *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction*, perkolasi, sokletasi dan lain-lain (Rahayu *et al.*, 2015). Metode ekstraksi yang dipilih tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Metode dipilih berdasarkan target ekstraksi yaitu senyawa bioaktif yang diketahui, senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme, sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural (Sarker *et al.*, 2006). Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan dilakukan dengan cara pengelompokan bagian tumbuhan (daun, bunga, dll), pengeringan dan penggilingan bagian tumbuhan, pemilihan pelarut baik polar (air, etanol, metanol dan sebagainya), semipolar (etil asetat, diklorometan dan sebagainya), nonpolar (n-heksan, petroleum eter, kloroform dan sebagainya yaitu maserasi, sokletasi dan *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction*) (Sarker *et al.*, 2006).

Bahan alam yang diekstrak untuk pembuatan *edible film* berupa bawang putih dan daun sirih merah. Bawang putih memiliki banyak khasiat dan dimanfaatkan sebagai obat untuk mencegah atau menyembuhkan berbagai penyakit seperti menurunkan kadar lemak darah, meringankan tukak lambung, menurunkan tekanan darah tinggi, gondokan, obat cacing, batuk, sesak napas, masuk angin, sakit kepala, sakit pinggang, bronkitis, asma dan salesma (BPOM, 2016). Kandungan kimia yang terdapat di bawang putih yaitu asam amino aliin; senyawa alisin; minyak atsiri; ajoen, alil alkohol, dialil disulfida, metil alil disulfida, dimetil trisulfida, alil metiltrisulfida; saponin; flavonoid (BPOM, 2016). Senyawa kimia dalam bawang putih memiliki peranan sebagai antioksidan yang dapat mencegah kerusakan sel dan organ dari proses oksidasi serta menetralkan radikal bebas (Prasanto *et al.*, 2017). Kandungan antioksidan yang kuat pada bawang putih terdapat pada senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) (Kumalaningsih, 2006).

Daun sirih merah juga banyak dimanfaatkan untuk menyembuhkan beberapa jenis penyakit seperti diabetes melitus, jantung koroner, TBC, asam urat,

kanker payudara, *leukimia*, ambeien, penyakit ginjal, impotensi, eksim atau eksema atau dermatitis, gatal-gatal, luka bernanah yang sulit sembuh, karies gigi, batuk, radang pada mata, gusi, telinga, prostat, hepatitis, hipertensi, keputihan kronis, DBD, penambah nafsu makan, penyakit luar dan bermanfaat bagi kecantikan (lulur, masker, penuaan dini, penghalus kulit dan lain-lain) (Damayanti, 2003). Kandungan kimia yang terdapat pada tanaman sirih merah mengandung metabolit sekunder yang menyimpan senyawa aktif seperti *alkali, flavonoid, polifenol, tanin, minyak atsiri, saponin, hidroksikaficol, kavicol, kavibetol, karbavakrol, cyanogenic, eugenol, cineole, kadimen, glucoside, isoprenoid, nonprotein amino acid, ter-penena, dan fenil propada* (Sudewo, 2010). Senyawa flavonoid merupakan senyawa fenolik yang berperan sebagai antioksidan, antidiabetik, antikanker, antiseptik dan antiinflamasi.

Ekstraksi bawang putih dan daun sirih merah menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan karena hanya membutuhkan sampel dalam jumlah sedikit (Agoes, 2007). Metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Tetti, 2014). Hasil maserat yang didapatkan selanjutnya di skrining fitokimia untuk mendapatkan gambaran golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak.

2.3 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa kompleks yang dapat menangkal radikal bebas di dalam tubuh manusia dengan cara mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas, sehingga menghentikan reaksi berantai dan mengubah radikal bebas menjadi bentuk yang stabil. Antioksidan berfungsi untuk menetralsir radikal bebas yang dapat mencegah terjadinya kerusakan tubuh dan timbulnya penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes melitus dan komplikasinya, stroke, *aterosklerosis* dan dapat menekan proses penuaan dini atau *antiaging*. Sumber antioksidan terbagi atas dua jenis yaitu antioksidan alami dan sintetik. Antioksidan alami diperoleh dari buah, sayur dan berbagai tanaman yang mempunyai manfaat yang besar bagi kesehatan. Antioksidan sintetik merupakan senyawa antioksidan yang disintesis secara kimia, contohnya *Butyl Hidroksil Anitol* (BHA), *Butyl*

Hidroksi Toluene (BHT), Tert-Butil Hidroksi Buinon (TBHQ) dan Propel galat yang menimbulkan efek karsinogenesis (Ghiselli *et al.*, 1998).

Efek samping antioksidan sintetik dapat menimbulkan kekhawatiran sehingga dicari antioksidan yang berasal dari bahan alami, seperti pada rempah-rempah, biji-bijian, kacang-kacangan, sayuran, buah-buahan dan lain-lain. Metode antioksidan yang digunakan yaitu *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)* karena mudah digunakan, cepat, cukup teliti baik digunakan dalam pelarut organik dan sensitif untuk menguji aktivitas antioksidan dalam ekstrak tanaman tapi kurang sensitif untuk mengukur aktivitas antioksidan selain dari senyawa fenol (Alpinar *et al.*, 2009). Mekanisme reaksi DPPH berlangsung melalui mekanisme transfer elektron yang dapat diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Intensitas warna dapat turun disebabkan berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. Senyawa antioksidan yang terdapat di dalam ekstrak akan mengubah warna ungu menjadi kuning dikarenakan senyawa antioksidan memiliki elektron bebas yang tidak berpasangan sehingga dapat mengikat elektron bebas dari DPPH (Dehpour *et al.*, 2009).

Kurva profil absorbansi terhadap konsentrasi menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi sampel akan menurunkan nilai absorbansi, hal ini terjadi karena proses stoikiometri reaksi reduksi senyawa radikal bebas DPPH oleh senyawa yang memberikan donor hidrogen sehingga DPPH menjadi senyawa yang stabil (Apak *et al.*, 2004). Nilai absorbansi yang diperoleh dimasukkan ke rumus inhibisi, kemudian dibuat kurva standar/kurva baku antara konsentrasi (ppm) dengan inhibisi lalu dimasukkan ke persamaan regresi linear untuk mengetahui nilai IC_{50} . Nilai absorbansi dan inhibisi yang didapat selanjutnya ditentukan nilai IC_{50} dengan konsentrasi sebagai x dan inhibisi sebagai y sehingga diperoleh nilai persamaan regresi $y = ax + b$. Nilai y disubstitusikan dengan 50, a sebagai intersep, b sebagai *slope* dan x sebagai nilai IC_{50} . Penentuan inhibisi dapat dilihat pada persamaan 2.1.

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{A \text{ blangko} - A \text{ sampel}}{A \text{ blangko}} \times 100\% \dots\dots\dots \text{(Persamaan 2.1)}$$

2.4 Validasi Metode Spektrometri

2.4.1 Linearitas

Linearitas dalam pengujian kimia menyatakan kemampuan cara kerja analisis yang mampu menghasilkan respon langsung dan proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel uji. Uji linearitas dilakukan dengan suatu larutan deret standar minimal empat deret dengan rentang konsentrasi yang berbeda dengan rentang 50-150% konsentrasi sampel (Riyanto, 2014). Linearitas suatu larutan memenuhi syarat jika nilai koefisien korelasi (r) yang didapat memiliki nilai $> 0,995$ (Ermer & Ploss, 2005).

2.4.2 *Limit of Detection (LoD)* dan *Limit of Quantitation (LoQ)*

Limit of Detection (LoD) dan *Limit of Quantitation (LoQ)* merupakan parameter yang digunakan untuk menentukan batas sensitivitas metode analisis terhadap deteksi analit dalam sampel. LoD adalah batas konsentrasi analit terendah yang masih dapat dideteksi tidak secara kuantitatif sedangkan LoQ merupakan batas konsentrasi analit terendah yang dapat diterapkan secara kuantitatif dengan tingkat akurasi dan presisi yang dapat diterima (Ferreiro-Vera *et al.*, 2011).

2.4.3 Presisi

Presisi merupakan derajat kedekatan hasil pengujian ketika prosedur diterapkan berulang kali pada beberapa sampel. Presisi dibagi menjadi tiga yaitu *repeatability* (laboratorium, peralatan dan analisis yang sama), *intra reproducibility* (laboratorium dan peralatan yang sama serta analisis yang berbeda) dan *inter reproducibility* (laboratorium, peralatan dan analisis yang berbeda) (Sukaryono *et al.*, 2017).

2.4.4 Akurasi

Akurasi merupakan kemampuan metode analisis untuk memperoleh nilai yang sebenarnya (ketepatan pengukuran). Metode pengujian akurasi terbagi menjadi tiga yaitu *Certifikat Reference Material (CRM)* yang dianalisis menggunakan material standar dengan membandingkan nilai hasil uji yang diperoleh dengan nilai acuan standar CRM, metode baku (membandingkan hasil

pengujian dengan metode yang sudah tervalidasi metode standar) dan metode perolehan kembali (dilakukan dengan menambahkan sejumlah analit yang telah diketahui konsentrasi sebenarnya ke dalam sampel yang akan dianalisis). Nilai akurasi dikatakan baik jika nilai yang dihasilkan masuk ke dalam rentang yang disyaratkan (Maryati, 2012).

2.4.5 Estimasi Ketidakpastian

Ketidakpastian pengukuran adalah nilai ketidakpastian yang didapatkan dari pengukuran suatu bahan dengan menggunakan peralatan dan instrumen yang terkalibrasi sehingga nilai ketidakpastian yang diperoleh adalah nilai ketidakpastian dari gabungan setiap proses pengukuran. Secara umum, prosedur penentuan estimasi ketidakpastian pengukuran ada tahap yang paling utama yaitu menentukan spesifikasi kuantitas yang diukur dengan persamaan atau rumus, mengidentifikasi sumber-sumber ketidakpastian dan menghitung masing-masing sumber ketidakpastian menjadi ketidakpastian baku yang nantinya akan didapatkan nilai ketidakpastian baku gabungan dan ketidakpastian baku diperluas (Susila & Estuningsih, 2024).

BAB III

METODOLOGI

3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu blender, gelas beker (Iwaki), kertas saring, pipet ukur (Iwaki), neraca analitik (Ohaus), spatula, oven (Memmert UN55), cawan petri, labu erlenmeyer (Iwaki), pipet tetes, labu ukur (Iwaki), *vortex mixer* (VELP ZX3), rak tabung, tabung reaksi spektrofotometer UV-Vis *Single Beam* (Thermo Scientific Orion Aquamate 8000).

3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu akuades, gliserol ($C_3H_8O_3$), etanol p.a (C_2H_5OH) 96% Merck, asam askorbat ($C_6H_8O_6$) (Merck), *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) (Sigma), *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) (Sigma Aldrich).

3.3 Cara Kerja

3.3.1 Pembuatan Ekstrak Bawang Putih

Ekstrak bawang putih dibuat dengan cara menghaluskan 20 g bawang putih yang kulitnya sudah dikupas dan ditambah 50 mL akuades menggunakan blender. Hasilnya diperoleh 50 mL cairan ekstrak bawang putih sebagai larutan baku. Larutan ekstrak bawang putih disaring menggunakan kertas saring. Hasil filtratnya adalah ekstrak bawang putih (*auratus Linn, n.d.*).

3.3.2 Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Merah

Daun sirih merah disortasi dan dicuci bersih kemudian ditiriskan dan diangin-anginkan selama 10 menit lalu dipisahkan ruas-ruas daun supaya mudah di blender dan untuk membantu pengecilan ukuran. Daun sirih merah dioven dengan suhu $70^{\circ}C$ selama 3 jam, diblender sampai halus, dicampurkan 250 g daun sirih kering dengan 500 mL akuades didiamkan selama 1 malam, disaring menggunakan kertas saring (Rangkuti, 2021).

3.3.3 Pembuatan Pati Eceng Gondok

Eceng gondok dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran. Potongan eceng gondok dihancurkan dengan cara diblender sehingga membentuk bubur kemudian disaring dengan menggunakan kain saringan sehingga menghasilkan ampas dan filtrat. Ampas disaring lagi dengan perbandingan 1:2 (ampas dan air) sehingga didapatkan filtrat. Hasil filtrat kemudian diendapkan selama 3-5 jam dengan 4 kali pencucian menggunakan etanol 96%. Endapan yang dihasilkan dipisahkan dari air dan dikeringkan pada suhu 60°C selama 5 jam. Pati kering lalu dihaluskan sehingga dapat digunakan sebagai sampel penelitian (Saputro *et al.*, 2016).

3.3.4 Pembuatan *Edible Film*

Edible film berbahan dasar eceng gondok dengan variasi penambahan ekstrak bawang putih dan daun sirih merah dibuat dengan mengikuti formulasi tabel 3.1.

Tabel 3. 1 Formulasi *Edible Film*

Kode Sampel	Pati Eceng Gondok (g)	V Akuades (mL)	Ekstrak Bawang Putih (mL)	Ekstrak Daun Sirih Merah (mL)	CMC (g)	Gliserol (mL)
A	2	100	0	0	0,5	1,5
B	2	90	10	0	0,5	1,5
C	2	90	0	10	0,5	1,5
D	2	90	5	5	0,5	1,5

Sampel A, B, C dan D masing-masing ditambahkan CMC sambil diaduk dan dipanaskan hingga suhu mencapai $\pm 60^{\circ}\text{C}$ dan larut sempurna. Gliserol ditambahkan sambil diaduk hingga suhunya mencapai 68°C - 73°C selama 15-20 menit. Sampel yang sudah tergelatinisasi dipindah ke erlenmeyer kemudian ditutup dengan alumunium foil dan didiamkan selama ± 12 jam. Sampel dimasukkan ke dalam cetakan kemudian dioven dengan suhu 50°C - 68°C selama 20 jam. Sampel yang sudah dioven dilepas dari cetakan kemudian disimpan dalam desikator.

3.3.5 Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM

Larutan DPPH 0,1 mM dibuat dengan menimbang serbuk DPPH sebanyak 3,9 mg kemudian dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu ukur 100 mL hingga

tanda batas. Larutan digojog hingga homogen dan dipindah ke dalam botol gelap (Nursafitri, 2020).

3.3.6 Pembuatan Larutan Standar Asam Askorbat 100 ppm

Larutan standar asam askorbat dibuat dengan menimbang serbuk asam askorbat sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan etanol 96% hingga volumenya 100 mL di dalam labu ukur 100 mL. Larutan digojog hingga homogen.

3.3.7 Pembuatan Larutan Induk Sampel konsentrasi 1000 ppm

Sampel ditimbang sebanyak 25 mg kemudian dilarutkan dengan etanol 96% sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 25 mL.

3.3.8 Validasi Metode Spektrofotometri

a) Pembuatan Kurva Kalibrasi (Larutan Pembanding)

Kurva kalibrasi dibuat dengan cara 4 mL larutan standar asam askorbat dipipet dengan variasi konsentrasi 1 ppm, 3 ppm, 5 ppm dan 7 ppm kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,1 mM. Larutan tersebut divorteks hingga homogen lalu diinkubasi pada suhu ruang di tempat gelap selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 515 nm dan direplikasi sebanyak 3 kali (Anggriwara, 2022).

b) Penentuan LoD dan LoQ

Batas deteksi dan batas kuantifikasi ditentukan dengan menggunakan metode kurva kalibrasi. Batas deteksi dapat dihitung berdasarkan nilai simpangan baku (SD) respon dengan kemiringan. Kurva baku pada level yang mendekati batas deteksi dan batas kuantifikasi.

c) Penentuan Presisi

Larutan sampel A, B, C dan D masing-masing dipipet sebanyak 1 mL, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan etanol 96% sampai tanda batas, kemudian dihomogenkan. Larutan tersebut dipipet sebanyak 4 mL, kemudian ditambahkan larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 1 mL. Larutan divorteks hingga homogen dan diinkubasi pada suhu ruang di tempat gelap selama 30 menit.

Absorbansi diukur pada panjang gelombang 515 nm dan direplikasi sebanyak 3 kali.

d) Penentuan Akurasi

Sampel uji dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan larutan standar asam askorbat 100 ppm sebanyak 0,5 mL kemudian ditepatkan dengan etanol 96% hingga tanda batas. Larutan tersebut dipipet sebanyak 4 mL kemudian ditambahkan larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 1 mL, vorteks hingga homogen lalu inkubasi pada suhu ruang di tempat gelap selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 515 nm dan direplikasi sebanyak 3 kali. Pengujian dilakukan secara duplo.

3.3.9 Penentuan Nilai IC₅₀

a) Pembuatan Kurva Kalibrasi (Larutan Pembanding)

Kurva kalibrasi dibuat dengan cara memipet 4 mL larutan standar asam askorbat dengan variasi konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm dan 5 ppm untuk pengujian nilai IC₅₀. Kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,1 mM, vorteks hingga homogen lalu inkubasi pada suhu ruang di tempat gelap selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 515 nm dan direplikasi sebanyak 3 kali (Anggriwara, 2022).

b) Pengukuran Daya Antioksidan Larutan Pembanding Asam Askorbat

Larutan pembanding asam askorbat dari berbagai konsentrasi (1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm) diambil sebanyak 4 mL kemudian ditambahkan larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 1 mL. Larutan di gojog dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 515 nm dan direplikasi sebanyak 3 kali (Anggriwara, 2022).

c) Pengukuran Daya Antioksidan Sampel

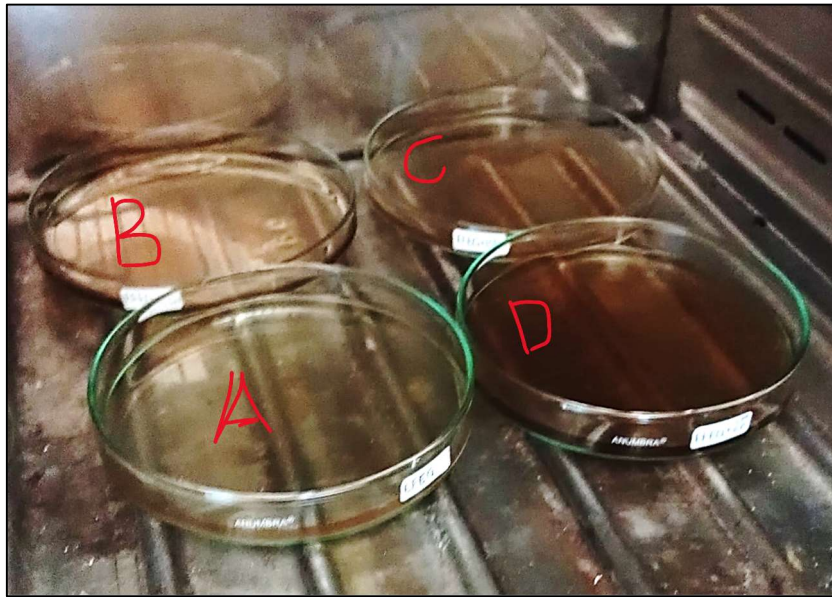
Sampel A, B, C dan D masing-masing ditimbang sebanyak 25 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan larutkan dengan etanol 96% hingga tanda batas. Larutan sampel A, B, C dan D masing-masing dipipet sebanyak 0,5 mL; 0,75 mL; 1 mL; 1,25 mL dan 1,5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10

mL kemudian ditambahkan dengan etanol 96% hingga tanda batas. Konsentrasi yang didapat adalah 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm dan 150 ppm. Larutan dari masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 4 mL kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 1 mL, vorteks hingga homogen, inkubasi di dalam ruangan gelap selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 515 nm dan direplikasi sebanyak 3 kali (Anggriwara, 2022).

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakteristik Fisik *Edible Film*

Edible film berbahan dasar eceng gondok dengan variasi penambahan ekstrak bawang putih dan daun sirih merah dapat dilihat bentuk fisiknya pada Gambar 4.1.



Gambar 4. 1 Bentuk Fisik *Edible Film*

Gambar 4.1 merupakan bentuk fisik dari *edible film* yang terbuat dari eceng gondok. *Edible film* pada gambar 4.1 (A) merupakan *edible film* tanpa tambahan ekstrak dengan warna coklat kehijauan dan memiliki bau khas eceng gondok. Gambar 4.1 (B) merupakan *edible film* dengan penambahan ekstrak bawang putih yang berwarna kuning kecoklatan yang lebih pekat dari *edible film* tanpa penambahan ekstrak dan memiliki bau khas bawang putih yang lemah. Gambar 4.1 (C) merupakan *edible film* dengan penambahan ekstrak daun sirih merah memiliki warna merah kecoklatan yang lebih pekat dari *edible film* dengan ekstrak bawang putih dan memiliki bau khas daun sirih. Gambar 4.1 (D) merupakan *edible film* dengan penambahan ekstrak bawang putih dan daun sirih merah yang memiliki warna merah kecoklatan yang sangat pekat daripada *edible film* sebelumnya dan

memiliki bau yang khas daun sirih yang lebih dominan. Hasil analisis warna dan bau dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4. 1 Analisis Warna dan Bau

Kode Sampel	Warna	Bau
A	Coklat kehijauan	Khas eceng gondok
B	Kuning kecoklatan	Khas bawang putih
C	Coklat kemerahan	Khas daun sirih merah
D	Coklat kemerahan pekat	Dominan daun sirih merah

4.2 Penetapan Nilai IC₅₀

Pengujian antioksidan asam askorbat dan sampel terhadap radikal DPPH dinyatakan dengan nilai IC₅₀ yang didapat dari persamaan regresi linier $y = ax + b$ hubungan konsentrasi dengan persen inhibisi DPPH. Nilai y adalah nilai IC yang telah ditetapkan yaitu 50. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Nilai IC₅₀ kemudian dicocokkan dengan klasifikasi Blois. Pengujian konsentrasi inhibisi *edible film* eceng gondok sampel A, B, C dan D dengan konsentrasi 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm dan 150 ppm diukur dengan panjang gelombang 515 nm. Nilai absorbansi diperoleh melalui pengujian dengan spektrofotometer kemudian dicari persen penghambatan (persen inhibisi). Nilai persen penghambatan yang diperoleh selanjutnya ditentukan dan dihitung persamaan regresi dari konsentrasi sampel terhadap persen penghambatan. Persamaan didapatkan berdasarkan grafik antara variabel bebas yaitu konsentrasi larutan (x) dan variabel terikat yaitu persen penghambatan (y).

Nilai IC₅₀ *Edible film* eceng gondok dapat dilihat pada tabel 4.2. *Edible film* eceng gondok sampel A, B,C dan D masing-masing memiliki nilai IC₅₀ sebesar 169,13 ppm; 16,30 ppm; 10,64 ppm 1,80 ppm; sementara nilai IC₅₀ asam askorbat sebesar 38,57 ppm. Nilai IC₅₀ pada asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif bernilai kecil yang tergolong dalam antioksidan sangat kuat. Nilai IC₅₀ pada *edible film* eceng gondok sampel B, C dan D tergolong sangat kuat karena nilai IC₅₀ yang didapat <50 ppm, sementara untuk sampel A tergolong antioksidan yang lemah karena nilai IC₅₀ berada di antara 151-200 ppm. Hasil nilai yang didapatkan berbeda-beda karena disebabkan oleh beberapa faktor, mulai dari pemilihan metode

ekstraksi, pemilihan pelarut, temperatur, waktu penyimpanan ekstrak, pembuatan larutan dan lain-lain.

Tabel 4. 2 Absorbansi dan Persen Inhibisi Sampel

Sampel	C (ppm)	Rata-Rata Absorbansi	Rerata Persen Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
A	50	0,1670	44,15	169,13
	75	0,1503	49,72	
	100	0,1470	50,84	
	125	0,1560	47,83	
	150	0,1543	48,38	
B	50	0,1440	51,84	16,30
	75	0,1390	53,51	
	100	0,1410	52,84	
	125	0,1347	54,96	
	150	0,1280	57,19	
C	50	0,1170	60,87	10,64
	75	0,1150	61,54	
	100	0,1050	64,88	
	125	0,0800	73,24	
	150	0,0680	77,26	
D	50	0,1250	58,19	1,80
	75	0,1190	60,20	
	100	0,1047	64,99	
	125	0,0900	69,90	
	150	0,0817	72,69	

4.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan

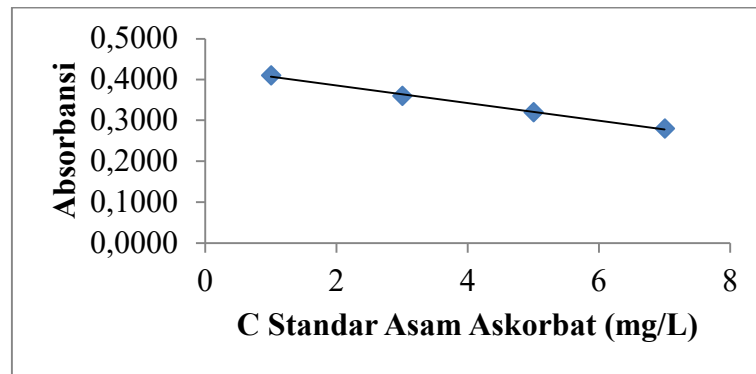
Edible film dilarutkan dengan etanol kemudian diaduk dan di vorteks supaya dapat tercampur homogen saat dilakukan pengenceran. Larutan uji dengan berbagai konsentrasi kemudian ditambahkan dengan larutan DPPH, dilakukan inkubasi selama 30 menit. Inkubasi dilakukan dengan keadaan gelap, setelah 30 menit akan terjadi perubahan warna pada larutan. Perubahan warna yang terjadi menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dalam pelarut secara kualitatif. Larutan tanpa antioksidan akan berwarna violet dan semakin tinggi aktivitas antioksidannya maka warna akan semakin pucat.

4.3.1 Parameter Uji Validasi Spektrofotometri

4.3.1.1 Linearitas

Linearitas digunakan untuk menunjukkan dan mengetahui respon dari suatu metode analisis. Syarat nilai koefisien korelasi (r) yang didapat harus memiliki nilai $> 0,995$ (Ermer & Ploss, 2005). Penentuan kurva kalibrasi dilakukan dengan menganalisis serangkaian konsentrasi larutan standar asam askorbat. Variasi konsentrasi yang digunakan dalam deret standar yaitu 1, 3, 5 dan 7 ppm dengan menggunakan instrumen spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 515 nm.

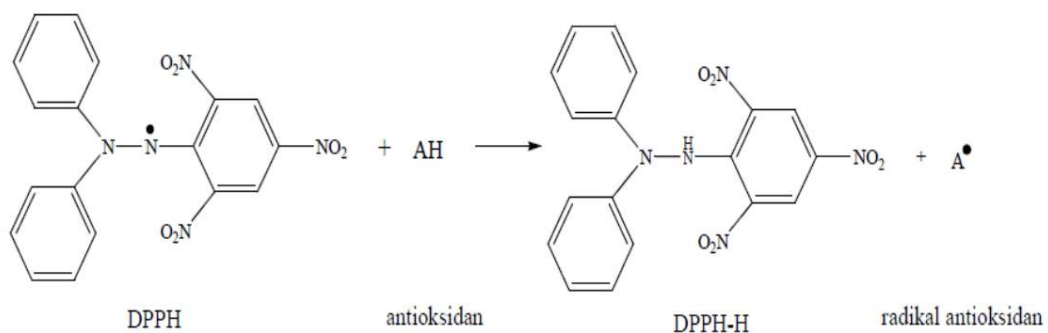
Persamaan regresi linear dibuat dengan sumbu x sebagai konsentrasi dan sumbu y sebagai absorbansi. Persamaan regresi linear yang didapat yaitu $y = -0,0215x + 0,4285$ dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9984. Nilai *slope* yang didapat sebesar -0,0215 yang menunjukkan sensitivitas metode, apabila nilai *slope* turun maka sensitivitas turun begitu juga sebaliknya. Nilai intersep yang didapatkan sebesar 0,4285. Nilai intersep yang ideal adalah 0 karena pada saat pengukuran blanko diharapkan instrumen tidak memberikan respon, akan tetapi sering didapatkan adanya respon dari instrumen yang penyebabnya bisa berasal dari interaksi interferensi, *noise*, kontaminasi ataupun hal lainnya. Kurva kalibrasi pada gambar 4.2 merupakan kurva dengan *slope* negatif di mana antara konsentrasi dan absorbansi memiliki hubungan dengan arah terbalik sehingga semakin rendah absorbansi standar maka semakin tinggi konsentrasinya sehingga kurva yang dihasilkan memiliki bentuk menurun (Rao, 2018). *Slope* negatif disebabkan karena kadar antioksidan di dalam asam askorbat di bawah limit deteksi yang berarti asam askorbat mengandung sedikit DPPH. Batas keberterimaan untuk nilai koefisien korelasi (r) lebih besar rata sama dengan 0,995.



Gambar 4. 2 Kurva Standar Asam Askorbat

Jika koefisien korelasi regresi linear (R) $< 0,995$, periksa kondisi alat dan ulangi penentuan kurva kalibrasi hingga diperoleh koefisien korelasi $R \geq 0,995$. Nilai koefisien korelasi (R) yang diperoleh ($0,9984$) sehingga dapat disimpulkan bahwa kurva kalibrasi yang digunakan bersifat linear karena menunjukkan angka lebih dari $0,995$.

Antioksidan diuji dengan menggunakan metode DPPH yang merupakan senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dan berwarna gelap akibat adanya gugus kromofor dan aoksokrom pada radikal bebas DPPH. Senyawa antioksidan bereaksi dengan DPPH akan menghasilkan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* tereduksi dan radikal antioksidan. Reaksi yang terjadi dapat dilihat pada gambar 4.3.



Gambar 4. 3 Reaksi DPPH dengan Antioksidan (Molyneux, 2004)

Larutan yang mengandung senyawa antioksidan direaksikan dengan larutan DPPH dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm. Prinsip kerja metode ini yaitu radikal DPPH bereaksi dengan antioksidan maka radikal DPPH akan pindah ke antioksidan menjadi radikal antioksidan sedangkan DPPH menjadi

tidak radikal (Shalaby & Shanab, 2013). Radikal bebas yang ditangkap oleh antioksidan menyebabkan elektron berpasangan dan jumlah DPPH berkurang sehingga menyebabkan nilai absorbansi turun dan terjadi perubahan warna dari ungu tua menjadi kuning muda.

4.3.1.2 *Limit of Detection (LoD)* dan *Limit of Quantitation (LoQ)*

Limit of Detection (LoD) atau batas deteksi merupakan jumlah atau konsentrasi terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi, namun tidak perlu diukur sesuai dengan nilai sebenarnya. *Limit of Quantitation* (LoQ) atau batas kuantitasi adalah jumlah analit terkecil dalam sampel yang dapat ditentukan secara kuantitatif pada tingkat ketelitian dan kerapatan yang baik. Nilai dari LoD dan LoQ pada pengujian ini didasarkan pada data metode kurva kalibrasi. Data penentuan LoD dan LoQ dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4. 3 Data Penentuan LoD dan LoQ

No	C Std (mg/L)	Abs (Y)	Yi	(Y-Yi)	(Y-Yi) ²
1	1	0,4100	0,4070	0,0030	0,0000
2	3	0,3600	0,3640	-0,0040	0,0000
3	5	0,3200	0,3210	-0,0010	0,0000
4	7	0,2800	0,2780	0,0020	0,0000
$\Sigma(Y-Yi)^2$					0,00003
Sy/x					0,0039
LoD (mg/L)					0,5404
LoQ (mg/L)					1,8014

Berdasarkan perhitungan pada Tabel 4.3, diperoleh nilai *Limit of Detection* (LoD) sebesar 0,5404 mg/L, nilai ini menunjukkan jumlah analit terkecil yang masih dapat dideteksi dengan metode spektrofotometri UV-Vis sedangkan nilai LoQ yang diperoleh sebesar 1,8014 mg/L yang artinya pada konsentrasi tersebut bila dilakukan pengenceran dapat memberikan kecermatan. Syarat batas keberterimaan adalah nilai LoD harus lebih kecil dari nilai LoQ yang didapatkan, sedangkan syarat keberterimaan nilai LoQ adalah sampel yang didapatkan harus lebih besar daripada nilai LoQ, artinya nilai LoD dan nilai LoQ yang didapatkan masuk ke dalam syarat keberterimaan yang telah ditetapkan.

4.3.1.3 Presisi

Presisi merupakan ukuran yang menunjukkan kedekatan hasil pengujian satu dengan yang lainnya pada serangkaian pengujian. Uji presisi pada kegiatan verifikasi metode pengujian ini dilakukan dengan menggunakan perhitungan *Relative Percent Different* (RPD) yaitu analisis duplikat yang bertujuan untuk menghitung variasi nilai hasil pengujian yang diperoleh analisis dari sampel yang sama dalam waktu yang singkat menggunakan metode dan peralatan pengujian tertentu. Syarat batas keberterimaan nilai %RPD harus kurang dari 10%. Hasil absorbansi dari pengulangan tersebut dapat dihitung nilai presisi yang ditunjukkan pada Tabel 4.4.

Tabel 4. 4 Hasil Analisis Kadar Antioksidan

Sampel	Pengulangan	Rerata Abs.	Xi (mg/L)	Rata-Rata Xi	FP	Nilai RPD (%W/W)	Selisih Nilai RPD (%)	Rerata Nilai RPD (%)
A	1	0,2783	6,9845	7,3411	10	0,0070	0,0007	0,0073
	2	0,2630	7,6977			0,0077		
B	1	0,2930	6,3023	6,3488	10	0,0063	0,0001	0,0063
	2	0,2910	6,3953			0,0064		
C	1	0,3427	3,9922	4,1473	10	0,0040	0,0003	0,0041
	2	0,3360	4,3023			0,0043		
D	1	0,2870	6,5814	6,7209	10	0,0066	0,0003	0,0067
	2	0,2810	6,8605			0,0069		

Nilai RPD yang diperoleh sampel A, B, C dan D kurang dari 10% sehingga dapat dikatakan presisi pengujian baik. Semakin rendah konsentrasi analit yang diuji maka semakin tinggi batas kadar keberterimaannya. Nilai RPD yang baik adalah <10%, jika RPD yang dihasilkan lebih besar atau sama dengan 10% maka diulangi sampai didapatkan hasil nilai RPD $\leq 10\%$ (Riyanto, 2014).

4.3.1.4 Akurasi

Penentuan akurasi pada penelitian ini menggunakan teknik spike batas keberterimaan untuk spike matriks berkisar antara 80% - 115% (AOAC, 2010). Hasil perhitungan nilai *recovery* pada sampel A sebesar 95,19%; sampel B sebesar

90,70%; sampel C sebesar 88,37% dan sampel D sebesar 100,93%. Data penentuan akurasi dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4. 5 Data Penentuan Akurasi Sampel

Spike	Pengulangan	Rata-Rata Abs.	C spike (mg/L)	100 ppm (mg/L)	C sampel (mg/L)	Nilai R (%)	Selisih Nilai R (%)	Rerata Nilai R (%)																																		
A	1	0,1533	12,7984	5	7,3411	109,15	27,91	95,19																																		
	2	0,1833	11,4031			81,24			B	1	0,3950	1,5581	5	6,3488	95,81	10,23	90,70	2	0,3840	2,0698	85,58	C	1	0,2340	9,0465	5	4,1473	97,98	19,22	88,37	2	0,2547	8,0853	78,76	D	1	0,1680	12,1163	5	6,7209	107,91	13,95
B	1	0,3950	1,5581	5	6,3488	95,81	10,23	90,70																																		
	2	0,3840	2,0698			85,58			C	1	0,2340	9,0465	5	4,1473	97,98	19,22	88,37	2	0,2547	8,0853	78,76	D	1	0,1680	12,1163	5	6,7209	107,91	13,95	100,93	2	0,1830	11,4186	93,95								
C	1	0,2340	9,0465	5	4,1473	97,98	19,22	88,37																																		
	2	0,2547	8,0853			78,76			D	1	0,1680	12,1163	5	6,7209	107,91	13,95	100,93	2	0,1830	11,4186	93,95																					
D	1	0,1680	12,1163	5	6,7209	107,91	13,95	100,93																																		
	2	0,1830	11,4186			93,95																																				

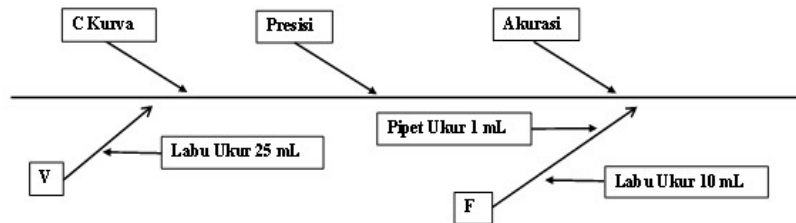
Nilai akurasi (*recovery*) sampel A, B, C dan D telah memenuhi syarat keberterimaan yang ditetapkan dalam (AOAC, 2010) dengan rentang 80-110% yang berarti hasil yang didapatkan masuk ke dalam rentang keberterimaan yang telah ditetapkan.

4.3.1.5 Estimasi Ketidakpastian

Setiap pengukuran pasti memiliki penyimpangan, untuk menghasilkan hasil yang bisa dipercaya. Ketertelusuran dari sebuah pengujian bisa dihubungkan atau dikaitkan dengan nilai ketidakpastian dengan kata lain bisa dihubungkan dengan nilai benar yang berasal dari bahan acuan, sedangkan ketidakpastian menyatakan sebaran nilai kuantitatif yang diperoleh dari hasil pengujian berdasarkan informasi yang digunakan, sehingga ketidakpastian merupakan nilai rentang di mana nilai benar itu berada. Ketidakpastian pengukuran dilakukan melalui tahapan 1) membuat skema kerja, 2) membuat diagram tulang ikan dari faktor-faktor yang memberikan kontribusi pada kesalahan pengukuran, 3) menentukan nilai ketidakpastian baku dari setiap sumber, 4) menentukan ketidakpastian gabungan dari ketidakpastian relatif, 5) menentukan ketidakpastian diperluas.

Diagram tulang ikan dibuat sebagai langkah untuk menelusuri penyumbang ketidakpastian dan untuk menentukan faktor-faktor yang menyebabkan dan

menyumbang nilai ketidakpastian, diagram tulang ikan ditunjukkan pada Gambar 4.4.

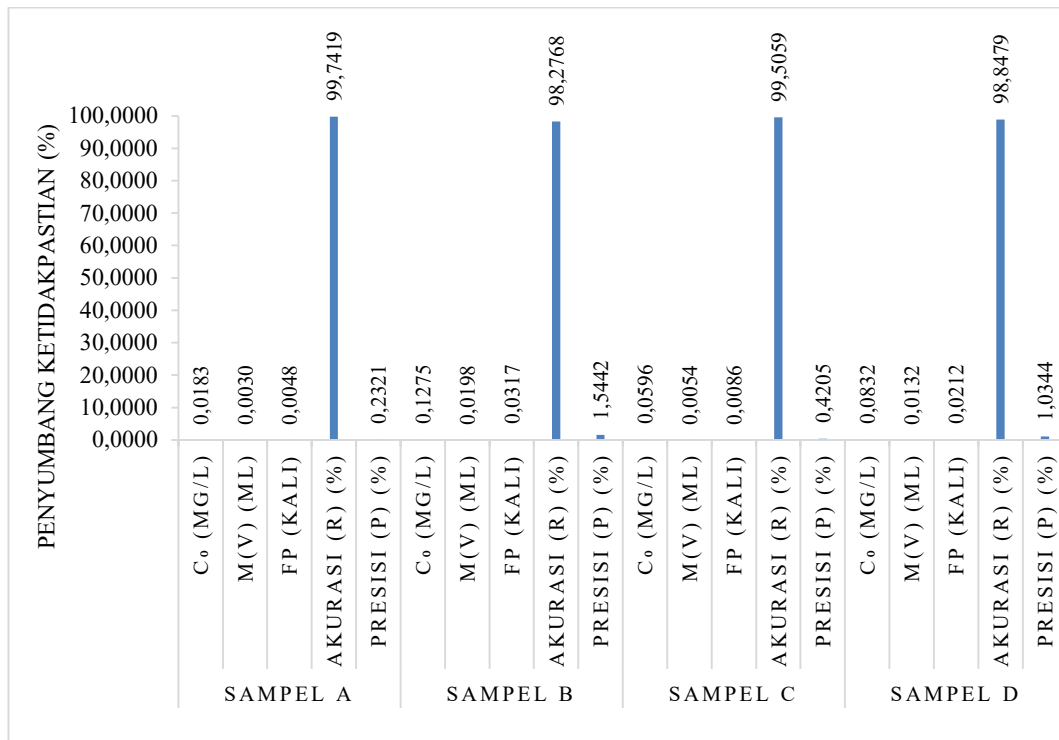


Gambar 4. 4 Diagram Tulang Ikan

Diagram tulang ikan pada Gambar 4.4 diketahui nilai ketidakpastian berasal dari beberapa faktor di antaranya konsentrasi, presisi, akurasi, volume dan faktor pengencer. Semua ketidakpastian digunakan untuk menentukan ketidakpastian baku hingga ketidakpastian gabungan. Sumber dari penyumbang nilai ketidakpastian berdasarkan sumber-sumber nilai ketidakpastian dapat dilihat pada Tabel 4.6.

Tabel 4. 6 Sumber Penyumbang Nilai Ketidakpastian Sampel

Kode Sampel	Lambang	Nilai (x)	Satuan	EKP Diperluas (μ)	Pelaporan Hasil (mg/L)
A	C_0	7,3411	mg/L	0,0030	$7,3411 \pm 0,0030$
	$\mu(V)$	25	mL		
	FP	10	Kali		
	Akurasi (R)	95,1938	%		
	Presisi (P)	0,0007	%		
B	C_0	6,3488	mg/L	0,0010	$6,3488 \pm 0,0010$
	$\mu(V)$	25	mL		
	FP	10	Kali		
	Akurasi (R)	90,6977	%		
	Presisi (P)	0,0001	%		
C	C_0	4,1473	mg/L	0,0013	$4,1473 \pm 0,0013$
	$\mu(V)$	25	mL		
	FP	10	Kali		
	Akurasi (R)	88,3721	%		
	Presisi (P)	0,0003	%		
D	C_0	6,7209	mg/L	0,0013	$6,7209 \pm 0,0030$
	$\mu(V)$	25	mL		
	FP	10	Kali		
	Akurasi (R)	100,9302	%		
	Presisi (P)	0,0003	%		



Gambar 4.5 Grafik Nilai Ketidapastian

Penyumbang ketidapastian terbesar dapat dilihat pada Tabel 4.6 dan Gambar 4.5 yaitu ketidapastian akurasi. Ketidapastian akurasi ini dapat berasal dari ketidaktepatan pada saat pembuatan larutan, pengenceran, pemipetan atau ketidakstabilan larutan. Faktor kesalahan lain yang mungkin adalah faktor personal dari ketidaktepatan ketika pembacaan karena posisi mata yang tidak tepat sehingga diperoleh larutan yang tidak tepat dengan konsentrasi target yang ingin dibuat. Nilai ketidapastian diperluas masing-masing sampel yang didapatkan adalah 0,0030; 0,0010; 0,0013 dan 0,0013 mg/L sehingga dapat dilaporkan bahwa hasil pengujian masing-masing sampel adalah $7,3411 \pm 0,0030$; $6,3488 \pm 0,0010$; $4,1473 \pm 0,0013$ dan $6,7209 \pm 0,0030$ mg/L.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian uji aktivitas antioksidan *edible film* dari eceng gondok dengan variasi ekstrak bawang putih dan daun sirih merah yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Nilai IC_{50} *edible film* eceng gondok tanpa ekstrak sebesar 169,13 ppm; dengan ekstrak bawang putih sebesar 16,30 ppm; dengan ekstrak daun sirih merah sebesar 10,64 ppm dan dengan ekstrak bawang putih dan daun sirih merah sebesar 1,80 ppm; sementara nilai IC_{50} asam askorbat sebesar 38,57 ppm.
2. Kadar antioksidan dalam *edible film* eceng gondok dengan ekstrak bawang putih, daun sirih merah, bawang putih dan daun sirih merah dan asam askorbat sangat kuat, sementara untuk *edible film* eceng gondok tanpa tambahan ekstrak aktivitas antioksidannya lemah.
3. Validasi metode penentuan antioksidan *edible film* secara spektrofotometri UV-Vis memenuhi syarat keberterimaan dengan perolehan nilai pada parameter linearitas diperoleh $y = -0,0215x + 0,4285$ dengan koefisien determinasi 0,9968; limit deteksi sebesar 0,5404 mg/L; limit kuantitasi sebesar 1,8014 mg/L; rata-rata nilai RPD (%w/w) masing-masing sampel sebesar 0,0073%; 0,0063%; 0,0041%; 0,0067 %; akurasi masing-masing sampel sebesar 95,19%; 90,70%; 88,37%; 100,93% dan ketidakpastian yang didapat masing-masing sampel yaitu $7,3411 \pm 0,0030$ mg/L; $6,3488 \pm 0,0010$ mg/L; $4,1473 \pm 0,0013$ mg/L dan $6,7209 \pm 0,0030$ mg/L. Hasil validasi metode penentuan antioksidan *edible film* secara spektrofotometri UV-Vis memenuhi syarat keberterimaan.

5.2 Saran

Uji aktivitas antioksidan *edible film* dari eceng gondok dengan variasi ekstrak bawang putih dan daun sirih merah metode DPPH disarankan agar melakukan preparasi di dalam ruang yang gelap (sedikit cahaya) atau alat yang digunakan dilapisi dengan aluminium *foil*. Hal tersebut bertujuan untuk mengurangi

paparan cahaya langsung mengenai larutan sehingga larutan tidak cepat rusak.
Deret standar yang dibuat perlu ditambahkan satu konsentrasi yang lebih pekat.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Fattah, A. F., & Abdel-Naby, M. A. (2012). Pretreatment and enzymic saccharification of water hyacinth cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 87(3), 2109–2113.
- Agoes, G. (2007). Teknologi bahan alam. *Bandung: Penerbit ITB*, 21–27.
- Al Ridho, E. (2013). Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol buah lakum (*Cayratia trifolia*) dengan metode DPPH (2, 2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 1(1).
- Alpinar, K., Oezyurek, M., Kolak, U., Gueclue, K., ARAS, Ç., Altun, M., Esin çELIK, S., BERKER, K. I., BEKTAŞOĞLU, B., & APAK, R. (2009). Antioxidant capacities of some food plants wildy grown in Ayvalik of Turkey. *Food Science and Technology Research*, 15(1), 59–64.
- Anggriwara, N. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Durian Bangkok (*Durio zibenthinus* Murr.) dengan Metode DPPH. *Skripsi*.
- AOAC. (2010). *Official Methods of Analytical of The Association of The Official Analytical Chemist*.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970–7981.
- Astuti, P., & Erprihana, A. A. (2014). Antimicrobial edible film from banana peels as food packaging. *American Journal of Oil and Chemical Technologies*, 2(2), 65–70.
- auratus Linn, Y. M. I. M. A. S. K. C. (n.d.). *PENGARUH EKSTRAK BAWANG PUTIH DENGAN DOSIS YANG BERBEDA TERHADAP MORTALITAS KUTU IKAN (Argulus sp.)*.
- Aydin, A., Bostan, K., Erkan, M. E., & Bingöl, B. (2007). The antimicrobial effects of chopped garlic in ground beef and raw meatball (ciğ köfte). *Journal of Medicinal Food*, 10(1), 203–207.
- BPOM. (2016). *Bawang Putih (Allium sativum L.)*. Badan Pengawas Obat dan Makanan.
- Damayanti, A., & Fitriana, E. A. (2012). Pemungutan minyak atsiri mawar (rose oil) dengan metode maserasi. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*, 1(2).
- Damayanti, R. (2003). Mulyono. *Khasiat & Manfaat Daun Sirih: Obat Mujarab Dari Masa Ke Masa*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- dan Kehutanan, K. L. H. (2021). Sistem informasi pengelolaan sampah nasional. Retrieved from <https://sipsn.menlhk.go.id/sipsn>.
- Dehpour, A. A., Ebrahimzadeh, M. A., Fazel, N. S., & Mohammad, N. S. (2009). Antioxidant activity of the methanol extract of *Ferula assafoetida* and its essential oil composition. *Grasas y Aceites*, 60(4), 405–412.
- Elvira, K., Fachriyah, E., & Kusriani, D. (2018). Isolation of Flavonoid Compounds from Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) and Antioxidant Tests with DPPH (1, 1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) Method. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 21(4), 187–192.

- Ermer, J., & Ploss, H.-J. (2005). Validation in pharmaceutical analysis: Part II: central importance of precision to establish acceptance criteria and for verifying and improving the quality of analytical data. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 37(5), 859–870.
- Fennema, O., Donhowe, I. G., & Kester, J. J. (1994). Lipid type and location of the relative humidity gradient influence on the barrier properties of lipids to water vapor. In *Water in Foods* (pp. 225–239). Elsevier.
- Ferreiro-Vera, C., Mata-Granados, J. M., Priego-Capote, F., & de Castro, M. D. L. (2011). Automated method for targeting analysis of prostanoids in human serum by on-line solid-phase extraction and liquid chromatography–mass spectrometry in selected reaction monitoring. *Journal of Chromatography A*, 1218(20), 2848–2855.
- Ghiselli, A., Nardini, M., Baldi, A., & Scaccini, C. (1998). Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an Italian red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(2), 361–367.
- Heliawati, L., Lestari, S., Hasanah, U., Ajiati, D., & Kurnia, D. (2022). Phytochemical profile of antibacterial agents from red betel leaf (*Piper crocatum* Ruiz and Pav) against bacteria in dental caries. *Molecules*, 27(9), 2861.
- Hidayati, S., Zuidar, A. S., & Diani, A. (2015). Aplikasi sorbitol pada produksi biodegradable film dari nata de cassava. *Reaktor*, 15(3), 196–204.
- Kalsum, U., Robiah, R., & Yokasari, Y. (2020). Pembuatan Bioplastik Dari Ampas Tahu Dan Ampas Tebu Dengan Pengaruh Penambahan Gliserol Dan Tepung Maizena. *Jurnal Distilasi*, 5(2), 34–37.
- Katuuk, R. H. H., Wanget, S. A., & Tumewu, P. (2019). Pengaruh perbedaan ketinggian tempat terhadap kandungan metabolit sekunder pada gulma babadotan (*Ageratum conyzoides* L.). *Cocos*, 1(4).
- Krochta, J. M., & Mulder-Johnston, C. de. (1997). *Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities*.
- Kumalaningsih, S. (2006). *Antioksidan alami: penangkal radikal bebas*. Trubus Agrisarana.
- Kusumawati, D. H., & Putri, W. D. R. (2013). Karakteristik fisik dan kimia edible film pati jagung yang diinkorporasi dengan perasan temu hitam. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 1(1), 90–100.
- Maryati, S. (2012). Verifikasi dan Evaluasi Penerapan Cara Uji Cemaran Arsen dalam Makanan Metode Spektrofotometri Biru Molybdenum. *Jurnal Standardisasi*, 14(3), 228–236.
- McHUGH, T. H., Aujard, J., & Krochta, J. M. (1994). Plasticized whey protein edible films: water vapor permeability properties. *Journal of Food Science*, 59(2), 416–419.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar J. Sci. Technol*, 26(2), 211–219.
- Nuansa, M. F., Agustini, T. W., & Susanto, E. (2017). Karakteristik dan Aktivitas Antioksidan Edible Film dari Refined Karaginan dengan Penambahan Minyak Atsiri. *Jurnal Pengolahan Dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 6(1).

- Nursafitri, A. R. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Tandui (*Mangifera rufocostata* Kosterm.) Dengan Menggunakan Metode DPPH. *Skripsi. Program Studi Farmasi, Universitas Borneo Lestari, Banjarbaru (Tidak Dipublikasikan)*.
- Pokorny, J., & Korczak, J. (2001). Preparation of natural antioxidant In: Pokorny, J. Yanishlieva, N., Gordon, M, editors. *Antioxidants in Food: Practical Application. Cambridge England: Wood Head Publishing Limited*, 41–311.
- Prasanto, D., Riyanti, E., & Gartika, M. (2017). Uji aktivitas antioksidan ekstrak bawang putih (*Allium sativum*). *Odonto*, 4(2), 122.
- Putrawan, I. N. A. (2022). *Sampah dalam persepektif hukum lingkungan hindu: Telaah sampah pada DAS tukad bindu Bali*. Nilacakra.
- Rahayu, S., Kurniasih, N., & Amalia, V. (2015). Ekstraksi dan identifikasi senyawa flavonoid dari limbah kulit bawang merah sebagai antioksidan alami. *Al Kimiya: Jurnal Ilmu Kimia Dan Terapan*, 2(1), 1–8.
- Rangkuti, M. F. (2021). *Aplikasi Pektin Kulit Pisang Kepok (Musa paradisiaca L.) dan Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper ornatum) sebagai Edible Coating Buah Belimbing Manis*.
- Rao, T. N. (2018). Validation of analytical methods. *Calibration and Validation of Analytical Methods—a Sampling of Current Approaches*, 131–141.
- RATTE, F. D. (2021). *AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH (Piper crocatum Riuz & Pav)*.
- Riyanto, P. D. (2014). Validasi & Verifikasi Metode Uji Sesuai dengan ISO. *IEC 17025 Laboratorium Pengujian Dan Kalibrasi*.
- Saputro, D. T., Kurniawan, R., & Nata, I. F. (2016). *Konversi Pati Ubi Nagara (Ipomoea batatas L) Khas Kalimantan Selatan sebagai Sumber Bahan Baku Gelatin*.
- Sarker, S. D., Latif, Z., & Gray, A. I. (2006). An introduction to natural products isolation. *Methods Mol Biol*, 864, 1–25.
- Shalaby, E. A., & Shanab, S. M. M. (2013). *Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of Spirulina platensis*.
- Sinaga, L. L., & Sinaga, M. S. (2013). Karakteristik edible film dari ekstrak kacang kedelai dengan penambahan tepung tapioka dan gliserol sebagai bahan pengemas makanan. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 2(4), 12–16.
- Sudewo, B. (2010). *Basmi penyakit dengan sirih merah*. AgroMedia.
- Sukaryono, I. D., Hadinoto, S., & Fasa, L. R. (2017). Verifikasi metode pengujian cemaran logam pada Air Minum Dalam Kemasan (AMDK) dengan metode AAS-GFA. *Majalah Biam*, 13(1), 8–16.
- Susila, A. A., & Estuningsih, R. D. (2024). ESTIMASI KETIDAKPASTIAN PENETAPAN KADAR NITRIT (NO₂-N) DALAM AIR LIMBAH SECARA SPEKTROFOTOMETRI SINAR TAMPAK DI PT SUCOFINDO CABANG SEMARANG. *Dalton: Jurnal Pendidikan Kimia Dan Ilmu Kimia*, 7(2), 101–107.
- Tetti, M. (2014). Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2).

- Tovar-Jiménez, X., Favela-Torres, E., Volke-Sepúlveda, T. L., Escalante-Espinosa, E., Díaz-Ramírez, I. J., Córdova-López, J. A., & Téllez-Jurado, A. (2019). Influence of the geographical area and morphological part of the water hyacinth on its chemical composition. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, *11*(1), 39–52.
- Wirjosentono, B. (2009). *Studi Pemanfaatan Plastisiser Gliserol dalam Film Pati Ubi dengan Pengisi Serbuk Batang Ubi Kayu* [Doctoral dissertation]. Universitas Sumatera Utara.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM

Diketahui : BM DPPH = 394,32 g/mol
Volume larutan = 100 mL = 0,1000L
Mol DPPH = 0,0001 M

Ditanya : Berat(g) DPPH yang harus ditimbang?

Jawab : $g \text{ DPPH} = \text{BM DPPH} \times V. \text{ Larutan} \times \text{mol DPPH}$
 $g \text{ DPPH} = 394,32 \text{ g/mol} \times 0,1000 \text{ L} \times 0,0001 \text{ M}$
 $g \text{ DPPH} = 0,0039 \text{ g}$
 $g \text{ DPPH} = 3,9 \text{ mg}$

Jadi massa DPPH yang diperlukan untuk membuat larutan DPPH 0,1 mM adalah sebanyak 3,9 mg ke dalam labu ukur 100 mL.

Lampiran 2 Pembuatan Larutan Pembanding Asam Askorbat

Standar Asam Askorbat 100 ppm

$$\text{ppm} = \frac{\text{massa (mg)}}{\text{Volume (L)}}$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{x}{0,1000 \text{ L}}$$

$$x = 10 \text{ mg}$$

Massa asam askorbat yang ditimbang untuk membuat larutan standar asam askorbat 100 ppm adalah sebanyak 10 mg dalam labu 100 mL.

Lampiran 3 Parameter Uji Validasi

3.1 Linearitas

Pembuatan larutan standar asam askorbat 1, 3, 5 dan 7 ppm

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 = \frac{V_2 \times C_2}{C_1}$$

Keterangan :

V_1 = Volume awal larutan baku (mL)

C_1 = Konsentrasi awal larutan baku (mg/L)

V_2 = Volume akhir larutan baku (mL)

C_2 = Konsentrasi akhir larutan baku (mg/L)

Diketahui :

$$V_1 = 10 \text{ mL}$$

$$C_1 = 100 \text{ mg/L}$$

$$V_2 = 1 \text{ mg/L}, 3 \text{ mg/L}, 5 \text{ mg/L}, 7 \text{ mg/L}$$

Ditanya :

a. Konsentrasi 1 ppm

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 = \frac{V_2 \times C_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ mL} \times 1 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}$$

$$V_1 = 0,1 \text{ mL}$$

b. Konsentrasi 3 ppm

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 = \frac{V_2 \times C_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ mL} \times 3 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}$$

$$V_1 = 0,3 \text{ mL}$$

c. Konsentrasi 5 ppm

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 = \frac{V_2 \times C_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ mL} \times 5 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ mL}$$

d. Konsentrasi 7 ppm

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 = \frac{V_2 \times C_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ mL} \times 7 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}$$

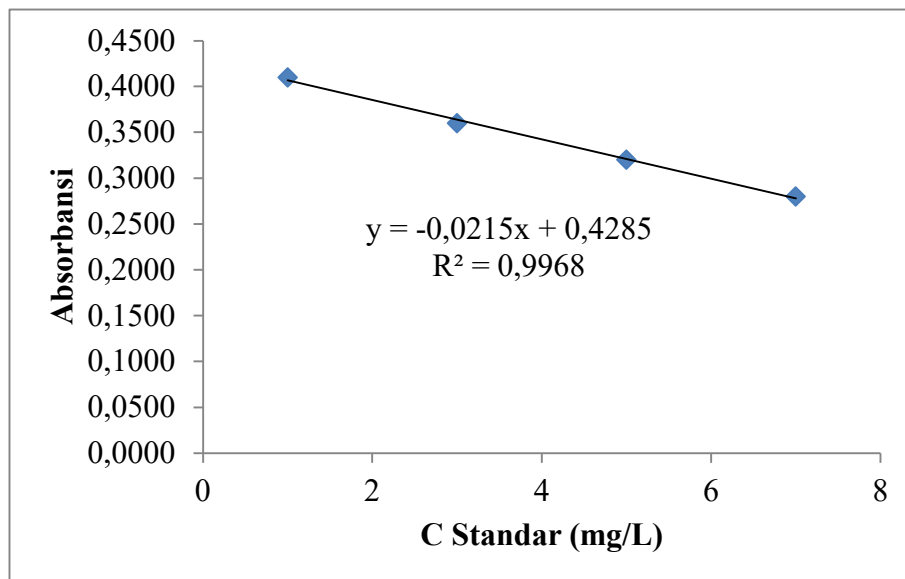
$$V_1 = 0,7 \text{ mL}$$

Kesimpulan:

Volume larutan standar asam askorbat 100 ppm yang harus dipipet untuk membuat deret standar dengan konsentrasi 1; 3; 5 dan 7 ppm adalah masing-masing sebanyak 0,1; 0,3; 0,5 dan 0,7 mL dengan volume akhir sebanyak 10 mL.

Persamaan regresi

No	C Std (mg/L)	Absorbansi			Rata-Rata
		1	2	3	
1	1	0,4100	0,4100	0,4100	0,4100
2	3	0,3600	0,3600	0,3600	0,3600
3	5	0,3200	0,3200	0,3200	0,3200
4	7	0,2800	0,2800	0,2800	0,2800



Persamaan kurva kalibrasi: $y = -0,0215x + 0,4285$

Slope : -0,0215

Intersep : 0,4285

Koefisien deteminasi (R^2) : 0,9968

Koefisien korelasi (R) : $\sqrt{\text{Nilai } R^2}$

Koefisien korelasi (R) : $\sqrt{0,9968}$

Koefisien korelasi (R) : 0,9984

3.2 Limit of Detection (LoD) and Limit of Quantitation (LoQ)

No	C Std (mg/L)	Abs (Y)	Yi	(Y-Yi)	(Y-Yi) ²
1	1	0,4100	0,4070	0,0030	0,0000
2	3	0,3600	0,3640	-0,0040	0,0000
3	5	0,3200	0,3210	-0,0010	0,1681
4	7	0,2800	0,2780	0,0020	0,1296
$\Sigma(Y-Yi)^2$					0,00003
Sy/x					0,0039
LoD (mg/L)					0,5404
LoQ (mg/L)					1,8014

$$y = -0,0215x + 0,4285$$

a. Penentuan Yi

Konsentrasi 1 ppm

$$Yi = ax + b$$

$$Yi = (-0,0215 \times 1 \text{ mg/L}) + 0,4285$$

$$Yi = 0,4070 \text{ mg/L}$$

Konsentrasi 3 ppm

$$Yi = ax + b$$

$$Yi = (-0,0215 \times 3 \text{ mg/L}) + 0,4285$$

$$Yi = 0,3640 \text{ mg/L}$$

Konsentrasi 5 ppm

$$Yi = ax + b$$

$$Yi = (-0,0215 \times 5 \text{ mg/L}) + 0,4285$$

$$Yi = 0,3210 \text{ mg/L}$$

Konsentrasi 7 ppm

$$Yi = ax + b$$

$$Yi = (-0,0215 \times 7 \text{ mg/L}) + 0,4285$$

$$Yi = 0,2780 \text{ mg/L}$$

b. Penentuan Sy/x

$$Sy/x = \sqrt{\frac{\Sigma(Yi-Y)^2}{n-2}}$$

$$Sy/x = \sqrt{\frac{0,00003}{2}}$$

$$S_{y/x} = 0,0039$$

c. Penentuan LoD

$$LoD = \frac{3 \times S_{y/x}}{\text{slope}}$$

$$LoD = \frac{3 \times 0,00003}{0,0215}$$

$$LoD = 0,5404 \text{ mg/L}$$

d. Penentuan LoQ

$$LoQ = \frac{10 \times \frac{S_{y/x}}{x}}{\text{slope}}$$

$$LoQ = \frac{10 \times 0,00003}{0,0215}$$

$$LoQ = 1,8014 \text{ mg/L}$$

3.3 Penentuan Presisi (RPD)

Sampel A

Pengulangan	Absorbansi			Rata-rata	Xi (mg/L)	Rata-Rata Xi (mg/L)	FP	Nilai RPD (%w/w)	Selisih Nilai RPD (%)	Rata-rata Nilai RPD (%)
	1	2	3							
1	0,2790	0,2790	0,2770	0,2783	6,9845	7,3411	10	0,0070	0,0007	0,0073
2	0,2620	0,2640	0,2630	0,2630	7,6977			0,0077		

Sampel B

Pengulangan	Absorbansi				Xi (mg/L)	Rata-Rata Xi (mg/L)	FP	Nilai RPD (%w/w)	Selisih Nilai RPD (%)	Rata-rata Nilai RPD (%)
	1	2	3	Rata-rata						
1	0,2930	0,2930	0,2930	0,2930	6,3023	6,3488	10	0,0063	0,0001	0,0063
2	0,2910	0,2910	0,2910	0,2910	6,3953					

Sampel C

Pengulangan	Absorbansi				Xi (mg/L)	Rata-Rata Xi (mg/L)	FP	Nilai RPD (%w/w)	Selisih Nilai RPD (%)	Rata-rata Nilai RPD (%)
	1	2	3	Rata-rata						
1	0,3430	0,3430	0,3420	0,3427	3,9922	4,1473	10	0,0040	0,0003	0,0041
2	0,3370	0,3360	0,3350	0,3360	4,3023					

Sampel D

Pengulangan	Absorbansi				Xi (mg/L)	Rata-Rata Xi (mg/L)	FP	%RPD (%w/w)	Selisih %RPD	Rata-rata %RPD
	1	2	3	Rata-rata						
1	0,2870	0,2870	0,2870	0,2870	6,5814	6,7209	10	0,0066	0,0003	0,0067
2	0,2810	0,2810	0,2810	0,2810	6,8605					

$$y = -0,0215x + 0,4285$$

a. Penentuan Xi (Konsentrasi Kurva Kalibrasi)

i. Sampel A

• Sampel A1

$$X_i = \frac{\text{absorbansi} - \text{intersep}}{\text{slope}}$$

$$X_i = \frac{0,2783 - 0,4285}{-0,0215}$$

$$X_i = 6,9845 \text{ mg/L}$$

• Sampel A2

$$X_i = \frac{\text{absorbansi} - \text{inte}}{\text{slope}}$$

$$X_i = \frac{0,263 \quad ,4285}{-0,0215}$$

$$X_i = 7,6977 \text{ mg/L}$$

ii. Sampel B

• Sampel B1

$$X_i = \frac{\text{absorbansi} - \text{interse}}{\text{slope}}$$

$$X_i = \frac{0,2930 - ,4285}{-0,0215}$$

$$X_i = 6,3023 \text{ mg/L}$$

• Sampel B2

$$X_i = \frac{\text{absorbansi} - \text{intersep}}{\text{slope}}$$

$$X_i = \frac{0,2910 - ,4285}{-0,0215}$$

$$X_i = 6,3953 \text{ mg/L}$$

iii. Sampel C

• Sampel C1

$$X_i = \frac{\text{absorbansi} - \text{inters}}{\text{slope}}$$

$$X_i = \frac{0,3427 - 0,4285}{-0,0215}$$

$$X_i = 3,9922 \text{ mg/L}$$

• Sampel C2

$$X_i = \frac{\text{absorbansi} - \text{in}}{\text{slope}}$$

$$X_i = \frac{0,3360 - 0,4285}{-0,0215}$$

$$X_i = 4,3023 \text{ mg/L}$$

iv. Sampel D

• **Sampel D1**

$$X_i = \frac{\text{absorbansi-intersep}}{\text{slope}}$$

$$X_i = \frac{0,2870 - 0,4285}{-0,0215}$$

$$X_i = 6,5814 \text{ mg/L}$$

• **Sampel D2**

$$X_i = \frac{\text{absorbansi-interse}}{\text{slope}}$$

$$X_i = \frac{0,2810 - 0,4285}{-0,0215}$$

$$X_i = 6,8605 \text{ mg/L}$$

b. Penentuan %RPD

$$\%RPD (w/w) = \left| \frac{C_{kurva} \times FP \times V}{25000 \text{ mg}} \times 100 \right|$$

i. Sampel A

• **Sampel A1**

$$\%RPD (w/w) = \left| \frac{6,9845 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 10 \times 0,025 \text{ L}}{25000 \text{ mg}} \times 100 \right|$$

$$\%RPD = 0,0070 \%$$

• **Sampel A2**

$$\%RPD (w/w) = \left| \frac{7,6977 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 10 \times 0,025 \text{ L}}{25000 \text{ mg}} \times 100 \right|$$

$$\%RPD = 0,0077\%$$

$$\text{Selisih \%R} = |0,0070\% - 0,0077\%|$$

$$\text{Selisih \%R} = 0,0007\%$$

$$\text{Rata-rata \%R} = \left| \frac{0,0070\% + 0,0077\%}{2} \right|$$

$$\text{Rata-rata \%R} = 0,0073\%$$

ii. Sampel B

• **Sampel B1**

$$\%RPD (w/w) = \left| \frac{6,3488 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 10 \times 0,025\text{L}}{25000 \text{ mg}} \times 100 \right|$$

$$\%RPD = 0,0063\%$$

- **Sampel B2**

$$\%RPD (w/w) = \left| \frac{6,3953 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 10 \times 0,025\text{L}}{25000 \text{ mg}} \times 100 \right|$$

$$\%RPD = 0,0064\%$$

$$\text{Selisih \%R} = |0,0063\% - 0,0064\%|$$

$$\text{Selisih \%R} = 0,0001\%$$

$$\text{Rata-rata \%R} = \left| \frac{0,0063\% + 0,0064\%}{2} \right|$$

$$\text{Rata-rata \%R} = 0,0063\%$$

iii. Sampel C

- **Sampel C1**

$$\%RPD (w/w) = \left| \frac{3,9922 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 10 \times 0,025\text{L}}{25000 \text{ mg}} \times 100 \right|$$

$$\%RPD = 0,0040\%$$

- **Sampel C2**

$$\%RPD (w/w) = \left| \frac{4,3023 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 10 \times 0,025\text{L}}{25000 \text{ mg}} \times 100 \right|$$

$$\%RPD = 0,0043\%$$

$$\text{Selisih \%R} = |0,0040\% - 0,0043\%|$$

$$\text{Selisih \%R} = 0,0003\%$$

$$\text{Rata-rata \%R} = \left| \frac{0,0040\% + 0,0043\%}{2} \right|$$

$$\text{Rata-rata \%R} = 0,0041\%$$

iv. Sampel D

- **Sampel D1**

$$\%RPD (w/w) = \left| \frac{6,5814 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 10 \times 0,025\text{L}}{25000 \text{ mg}} \times 100 \right|$$

$$\%RPD = 0,0066\%$$

- **Sampel D2**

$$\%RPD (w/w) = \left| \frac{6,8605 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 10 \times 0,025\text{L}}{25000 \text{ mg}} \times 100 \right|$$

$$\%RPD = 0,0069\%$$

$$\text{Selisih \%RPD} = |0,0070\% - 0,0077\%|$$

$$\text{Selisih \%RPD} = 0,0003\%$$

$$\text{Rata-rata \%RPD} = \left| \frac{0,0066\% + 0,0069\%}{2} \right|$$

$$\text{Rata-rata \%RPD} = 0,0067\%$$

3.4 Penentuan Akurasi

a. C spike

i. Sampel A

• Spike 1

$$C_{\text{spike}} = \frac{\text{absorbansi} - \text{intersep}}{\text{slope}} \times \text{FP}$$

$$C_{\text{spike}} = \frac{0,1533 - ,4285}{-0,0215} \times 1$$

$$C_{\text{spike}} = 12,7984 \text{ mg/L}$$

• Spike 2

$$C_{\text{spike}} = \frac{\text{absorbansi} - \text{intersep}}{\text{slope}} \times \text{FP}$$

$$C_{\text{spike}} = \frac{0,1833 - ,4285}{-0,0215} \times 1$$

$$C_{\text{spike}} = 11,4031 \text{ mg/L}$$

ii. Sampel B

• Spike 1

$$C_{\text{spike}} = \frac{\text{absorbansi} - \text{intersep}}{\text{slope}} \times \text{FP}$$

$$C_{\text{spike}} = \frac{0,3840 - ,4285}{-0,0215} \times 1$$

$$C_{\text{spike}} = 2,0698 \text{ mg/L}$$

• Spike 2

$$C_{\text{spike}} = \frac{\text{absorbansi} - \text{intersep}}{\text{slope}} \times \text{FP}$$

$$C_{\text{spike}} = \frac{0,3950 - ,4285}{-0,0215} \times 1$$

$$C_{\text{spike}} = 1,5581 \text{ mg/L}$$

iii. Sampel C

- **Spike 1**

$$C_{\text{spike}} = \frac{\text{absorbansi-intersep}}{\text{slope}} \times \text{FP}$$

$$C_{\text{spike}} = \frac{0,2547 - ,4285}{-0,0215} \times 1$$

$$C_{\text{spike}} = 8,0853 \text{ mg/L}$$

- **Spike 2**

$$C_{\text{spike}} = \frac{\text{absorbansi-intersep}}{\text{slope}} \times \text{FP}$$

$$C_{\text{spike}} = \frac{0,2340 - ,4285}{-0,0215} \times 1$$

$$C_{\text{spike}} = 9,0465 \text{ mg/L}$$

iv. Sampel D

- **Spike 1**

$$C_{\text{spike}} = \frac{\text{absorbansi-intersep}}{\text{slope}} \times \text{FP}$$

$$C_{\text{spike}} = \frac{0,1680 - ,4285}{-0,0215} \times 1$$

$$C_{\text{spike}} = 12,1163 \text{ mg/L}$$

- **Spike 2**

$$C_{\text{spike}} = \frac{\text{absorbansi-interse}}{\text{slope}} \times \text{FP}$$

$$C_{\text{spike}} = \frac{0,1830 - 0,4285}{-0,0215} \times 1$$

$$C_{\text{spike}} = 11,4186 \text{ mg/L}$$

b. C target

$$C_{\text{target}} = \frac{V_{\text{standar}} - C_{\text{standar}}}{V_{\text{total}}} \times \text{FP}$$

$$C_{\text{target}} = \frac{0,5 \text{ mL} - 10 \text{ mg/L}}{10 \text{ mL}} \times 1$$

$$C_{\text{target}} = 5 \text{ mg/L}$$

c. C sampel

$$C_{\text{sampel}} = X$$

$$C_{\text{sampel A}} = 7,3411 \text{ mg/L}$$

$$C_{\text{sampel B}} = 6,3488 \text{ mg/L}$$

$$C_{\text{sampel C}} = 4,1473 \text{ mg/L}$$

Csmpel D = 6,7209 mg/L

d. %R

$$\%R = \frac{A-B}{B} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Konsentrasi sampel yang diperkaya (spike) (mg/L)

B = Konsentrasi sampel (mg/L)

C = Konsentrasi larutan standar (mg/L)

i. Sampel A

• Sampel A1

$$\%R = \left| \frac{12,7984 \text{ mg/L} - 7,3411 \text{ mg/L}}{5 \text{ mg/L}} \times 100 \right|$$

$$\%R = 109,15\%$$

• Sampel A2

$$\%R = \left| \frac{11,4031 \text{ mg/L} - 7,3411 \text{ mg/L}}{5 \text{ mg/L}} \times 100 \right|$$

$$\%R = 81,24\%$$

$$\text{Selisih \%R} = |109,15\% - 81,24\%|$$

$$\text{Selisih \%R} = 27,91\%$$

$$\text{Rata-rata \%R} = \left| \frac{109,15\% + 81,24\%}{2} \right|$$

$$\text{Rata-rata \%R} = 95,19\%$$

ii. Sampel B

• Sampel B1

$$\%R = \left| \frac{1,5581 \text{ mg/L} - 6,3488 \text{ mg/L}}{5 \text{ mg/L}} \times 100 \right|$$

$$\%R = 95,81\%$$

• Sampel B2

$$\%R = \left| \frac{2,0698 \text{ mg/L} - 6,3488 \text{ mg/L}}{5 \text{ mg/L}} \times 100 \right|$$

$$\%R = 85,58\%$$

$$\text{Selisih \%R} = |95,81\% - 85,58\%|$$

$$\text{Selisih \%R} = 10,23\%$$

$$\text{Rata-rata \%R} = \left| \frac{95,81\% + 85,58\%}{2} \right|$$

Rata-rata %R = 90,70%

iii. Sampel C

- **Sampel C1**

$$\%R = \left| \frac{9,0465 \text{ mg/L} - 4,1473 \text{ mg/L}}{5 \text{ mg/L}} \times 100 \right|$$

$$\%R = 97,98\%$$

- **Sampel C2**

$$\%R = \left| \frac{8,0853 \text{ mg/L} - 4,1473 \text{ mg/L}}{5 \text{ mg/L}} \times 100 \right|$$

$$\%R = 78,76\%$$

$$\text{Selisih \%R} = |97,98\% - 78,76\%|$$

$$\text{Selisih \%R} = 19,22\%$$

$$\text{Rata-rata \%R} = \left| \frac{97,98\% + 78,76\%}{2} \right|$$

$$\text{Rata-rata \%R} = 88,37\%$$

iv. Sampel D

- **Sampel D1**

$$\%R = \left| \frac{12,1163 \text{ mg/L} - 6,7209 \text{ mg/L}}{5 \text{ mg/L}} \times 100 \right|$$

$$\%R = 107,91\%$$

- **Sampel D2**

$$\%R = \left| \frac{11,4186 \text{ mg/L} - 6,7209 \text{ mg/L}}{5 \text{ mg/L}} \times 100 \right|$$

$$\%R = 93,95\%$$

$$\text{Selisih \%R} = |12,1163\% - 11,4186\%|$$

$$\text{Selisih \%R} = 13,95\%$$

$$\text{Rata-rata \%R} = \left| \frac{12,1163\% + 11,4186\%}{2} \right|$$

$$\text{Rata-rata \%R} = 100,93\%$$

3.5 Penentuan Estimasi Ketidakpastian

a. Ketidakpastian Kurva Kalibrasi

No	C _j (mg/L)	A _j	(B ₀ + B ₁ .C _j)	[A _j - (B ₀ + B ₁ .C _j)] ²	(C _j -C Bar)	(C _j -C Bar) ²
1	1	0,0410	0,4070	0,1340	-3,0000	9,0000
2	3	0,0360	0,3640	0,1076	-1,0000	1,0000
3	5	0,0320	0,3210	0,0835	1,0000	1,0000
4	7	0,0280	0,2780	0,0625	3,0000	9,0000
C Bar	4	Σ[A_j-(B₀+B₁.C_j)]²		0,3876	S_{xx}	20,0000

No.	Deskripsi	Nilai
1	Sy/x	0,0004
2	B1 (Slope)	-0,0215
3	p (Jumlah sampel)	2
4	n (Jumlah standar)	4
5	C0 (Csampel)	7,3411
6	Cbar (Cstd rerata)	4,0000
7	Sxx (Jumlah Sxx)	20,0000
8	μ(C0) (Ketidakpastian Kurva)	-0,0206

$$S_{xx} = \sum_{j=1}^n (C_j - \bar{C})^2$$

$$S_{xx} = 20,0000$$

b. Ketidakpastian gabungan kurva kalibrasi

$$\mu(C_0) = \frac{S_{y/x}}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{S_{xx}}}$$

$$\mu(C_0) = \frac{0,0004}{-0,0215} \sqrt{\frac{1}{2} + \frac{1}{4} + \frac{(7,3411 - 4,0000)^2}{20,0000}}$$

$$\mu(C_0) = -0,0206$$

Keterangan :

S = standar deviasi

B₁ = slope

B₀ = intersep

p = jumlah sampel yang ditentukan konsentrasinya

n = jumlah kurva kalibrasi

C₀ = konsentrasi sampel

C = mean standar kalibrasi

A_j = absorbansi terukur ke-i

c. Ketidakpastian Labu Ukur 25 mL

No	Deskripsi	Nilai
1	a (volume kalibrasi) (mL)	0,0400
2	$\sqrt{6}$	2,4495
3	$\mu(Va)$	0,0163

$$\mu(Va) = \frac{a}{\sqrt{6}}$$

$$\mu(Va) = \frac{0,0400}{\sqrt{2,4495}}$$

$$\mu(Va) = 0,0163$$

Temperatur

No	Deskripsi	Nilai
1	Volume alat ukur (mL)	25
2	ΔT (°C)	8
3	a	0,0002
4	$\sqrt{3}$	1,7321
5	$\mu(FM)$	0,0231
6	$\mu(V)$	0,0283

$$\mu(FM) = \frac{\text{volume alat ukur} \times \Delta T \times a}{\sqrt{3}}$$

$$\mu(FM) = \frac{25 \times 8 \times 0,0002}{1,7321}$$

$$\mu(FM) = 0,0231$$

$$\mu(V) = \sqrt{(\mu(Va))^2 + (\mu(FM))^2}$$

$$\mu(V) = \sqrt{(0,0163^2) + (0,0231^2)}$$

$$\mu(V) = \sqrt{0,0003 + 0,0005}$$

$$\mu(V) = \sqrt{0,0008}$$

$$\mu(V) = 0,0283$$

d. Ketidakpastian Labu Ukur 10 mL

No	Deskripsi	Nilai
1	a (volume kalibrasi) (mL)	0,0250
2	$\sqrt{6}$	2,4495
3	$\mu(Va)$	0,0102

$$\mu(Va) = \frac{a}{\sqrt{6}}$$

$$\mu(Va) = \frac{0,0250}{\sqrt{2,4495}}$$

$$\mu(Va) = 0,0102$$

Temperatur

No	Deskripsi	Nilai
1	Volume alat ukur (mL)	10
2	ΔT ($^{\circ}\text{C}$)	8
3	A	0,0002
4	$\sqrt{3}$	1,7321
5	$\mu(\text{FM})$	0,0097
6	$\mu(\text{V})$	0,0141

$$\mu(\text{FM}) = \frac{\text{volume alat ukur} \times \Delta T \times a}{\sqrt{3}}$$

$$\mu(\text{FM}) = \frac{10 \times 8 \times 0,0002}{1,7321}$$

$$\mu(\text{FM}) = 0,0097$$

$$\mu(\text{V}) = \sqrt{(\mu(\text{Va}))^2 + (\mu(\text{FM}))^2}$$

$$\mu(\text{V}) = \sqrt{(0,0102^2) + (0,0097^2)}$$

$$\mu(\text{V}) = \sqrt{0,0001 + 0,0001}$$

$$\mu(\text{V}) = \sqrt{0,0002}$$

$$\mu(\text{V}) = 0,0141$$

e. Ketidakpastian Pipet Ukur 1 mL

No.	Deskripsi	Nilai
1	a (volume kalibrasi) (mL)	0,0060
2	$\sqrt{6}$	2,4495
3	$\mu(\text{Va})$	0,0024

$$\mu(\text{Va}) = \frac{a}{\sqrt{6}}$$

$$\mu(\text{Va}) = \frac{0,0060}{\sqrt{2,4495}}$$

$$\mu(\text{Va}) = 0,0024$$

Temperatur

No	Deskripsi	Nilai
1	Volume alat ukur (mL)	1
2	ΔT ($^{\circ}\text{C}$)	8
3	A	0,0002
4	$\sqrt{3}$	1,7321
5	$\mu(\text{FM})$	0,0010
6	$\mu(\text{V})$	0,0026

$$\mu(\text{FM}) = \frac{\text{volume alat ukur} \times \Delta T \times a}{\sqrt{3}}$$

$$\mu(\text{FM}) = \frac{1 \times 8 \times 0,0002}{1,7321}$$

$$\mu(\text{FM}) = 0,0010$$

$$\mu(\text{V}) = \sqrt{(\mu(\text{Va}))^2 + (\mu(\text{FM}))^2}$$

$$\mu(\text{V}) = \sqrt{(0,0024^2) + (0,0010^2)}$$

$$\mu(\text{V}) = \sqrt{0,00001 + 0,000001}$$

$$\mu(\text{V}) = \sqrt{0,000007}$$

$$\mu(\text{V}) = 0,0026$$

f. Ketidakpastian Presisi

$$\mu(p) = \frac{\text{selisih kadar (\%)}}{100}$$

i. Sampel A

No	Deskripsi	Nilai
1	selisih kadar (%)	0,0007
2	100	100
3	$\mu(p)$	0,00001

$$\mu(p) = \frac{0,0007\%}{100}$$

$$\mu(p) = 0,00001$$

ii. Sampel B

No	Deskripsi	Nilai
1	selisih kadar (%)	0,0001
2	100	100
3	$\mu(p)$	0,000001

$$\mu(p) = \frac{0,0001\%}{100}$$

$$\mu(p) = 0,000001$$

iii. Sampel C

No	Deskripsi	Nilai
1	selisih kadar (%)	0,0003
2	100	100
3	$\mu(p)$	0,000003

$$\mu(p) = \frac{0,0003\%}{100}$$

$$\mu(p) = 0,000003$$

iv. Sampel D

No	Deskripsi	Nilai
1	selisih kadar (%)	0,0003
2	100	100
3	$\mu(p)$	0,000003

$$\mu(p) = \frac{0,0003\%}{100}$$

$$\mu(p) = 0,000003$$

g. Ketidakpastian Akurasi

$$\mu(R) = \frac{\text{selisih \%R}}{\sqrt{n}}$$

i. Sampel A

No	Deskripsi	Nilai
1	Rata-rata %R	27,9070
2	\sqrt{n}	1,4142
3	$\mu(R)$	19,7332

$$\mu(R) = \frac{27,9070\%}{\sqrt{2}}$$

$$\mu(R) = \frac{27,9070\%}{1,4142}$$

$$\mu(R) = 19,7332$$

ii. Sampel B

No	Deskripsi	Nilai
1	Rata-rata %R	10,2326
2	\sqrt{n}	1,4142
3	$\mu(R)$	7,2355

$$\mu(R) = \frac{10,2326\%}{\sqrt{2}}$$

$$\mu(R) = \frac{10,2326\%}{1,4142}$$

$$\mu(R) = 7,2355$$

iii. Sampel C

No	Deskripsi	Nilai
1	Rata-rata %R	19,2248
2	\sqrt{n}	1,4142
3	$\mu(R)$	13,5940

$$\mu(R) = \frac{19,2248\%}{\sqrt{2}}$$

$$\mu(R) = \frac{19,2248\%}{1,4142}$$

$$\mu(R) = 13,5940$$

iv. Sampel D

No.	Deskripsi	Nilai
1	Rata-rata %R	13,9535
2	\sqrt{n}	1,4142
3	$\mu(R)$	9,8666

$$\mu(R) = \frac{13,9535\%}{\sqrt{2}}$$

$$\mu(R) = \frac{13,9535\%}{1,4142}$$

$$\mu(R) = 9,8666$$

h. Ketidakpastian Faktor Pengencer

$$\mu(FP) = \sqrt{(\mu(V)^2 \text{ labu ukur } 10 \text{ mL}) + (\mu(V)^2 \text{ pipet ukur } 1 \text{ mL})}$$

$$\mu(FP) = \sqrt{(0,0141^2) + (0,0026^2)}$$

$$\mu(FP) = \sqrt{0,0002 + 0,00001}$$

$$\mu(FP) = \sqrt{0,0002}$$

$$\mu(FP) = 0,0143$$

i. Ketidakpastian baku gabungan dan diperluas

Sampel A

No	Lambang	Deskripsi	Nilai (x)	Satuan	Ketidakpastian Baku ($\mu(x)$)	Ketidakpastian Relatif ($\mu(x)/x$)
1	C _o		7,3411	mg/L	-0,0206	-0,0028
2	$\mu(V)$	Volume akhir	25	mL	0,0283	0,0011
3	FP	Faktor pengenceran	10	Kali	0,0143	0,0014
4	Akurasi (R)	selisih %R	95,1938	%	19,7332	0,2073
5	Presisi (P)	selisih kadar (%)	0,0007	%	0,000007	0,0100
Ketidakpastian Gabungan (μ_c)						0,0015
Ketidakpastian Diperluas (μ)						0,0030
Pelaporan hasil (mg/L)				7,3411	±	0,0030

Sampel B

No	Lambang	Deskripsi	Nilai (x)	Satuan	Ketidakpastian Baku ($\mu(x)$)	Ketidakpastian Relatif ($\mu(x)/x$)
1	C _o		6,3488	mg/L	-0,0182	-0,0029
2	$\mu(V)$	Volume akhir	25	mL	0,0283	0,0011
3	FP	Faktor pengenceran	10	Kali	0,0143	0,0014
4	Akurasi (R)	selisih %R	90,6977	%	7,2355	0,0798
5	Presisi (P)	selisih kadar (%)	0,0001	%	0,000001	0,0100
Ketidakpastian Gabungan (μ_c)						0,0005
Ketidakpastian Diperluas (μ)						0,0010
Pelaporan hasil (mg/L)				6,3488	±	0,0010

Sampel C

No	Lambang	Deskripsi	Nilai (x)	Satuan	Ketidakpastian Baku ($\mu(x)$)	Ketidakpastian Relatif ($\mu(x)/x$)
1	C ₀		4,1473	mg/L	-0,0156	-0,0038
2	$\mu(V)$	Volume akhir	25	mL	0,0283	0,0011
3	FP	Faktor pengenceran	10	Kali	0,0143	0,0014
4	Akurasi (R)	selisih %R	88,3721	%	13,5940	0,1538
5	Presisi (P)	selisih kadar (%)	0,0003	%	0,000003	0,0100
Ketidakpastian Gabungan (μ_c)						0,0006
Ketidakpastian Diperluas (μ)						0,0013
Pelaporan hasil (mg/L)				4,1473	\pm	0,0013

Sampel D

No	Lambang	Deskripsi	Nilai (x)	Satuan	Ketidakpastian Baku ($\mu(x)$)	Ketidakpastian Relatif ($\mu(x)/x$)
1	C ₀	Konsentrasi sampel	6,7209	mg/L	-0,0191	-0,0028
2	$\mu(V)$	Volume akhir	25	mL	0,0283	0,0011
3	FP	Faktor pengenceran	10	Kali	0,0143	0,0014
5	Akurasi (R)	selisih %R	100,9302	%	9,8666	0,0978
6	Presisi (P)	selisih kadar (%)	0,0003	%	0,000003	0,0100
Ketidakpastian Gabungan (μ_c)						0,0007
Ketidakpastian Diperluas (μ)						0,0013
Pelaporan hasil (mg/L)				6,7209	\pm	0,0013

i. Ketidakpastian gabungan

$$\frac{\mu c(r)}{r} = \text{rata - rata \%RPD} \times \sqrt{\left(\frac{\mu(C_0)}{C_0}\right)^2 + \left(\frac{\mu(V)}{V}\right)^2 + \left(\frac{\mu(FP)}{FP}\right)^2 + \left(\frac{\mu(R)}{\text{selisih \%R}}\right)^2 + \left(\frac{\mu(p)}{\text{selisih kadar (\%)}}\right)^2}$$

• **Sampel A**

$$\text{Ketidakpastian relatif } C_0 = \frac{-0,0206}{7,3411 \text{ mg/L}} = -0,0028$$

$$\text{Ketidakpastian relatif } \mu(V) = \frac{0,0283}{25 \text{ mL}} = 0,0011$$

$$\text{Ketidakpastian faktor pengencer} = \frac{0,0143}{10} = 0,0014$$

$$\text{Ketidakpastian relatif akurasi} = \frac{19,7322}{95,1938\%} = 0,2073$$

$$\text{Ketidakpastian relatif presisi} = \frac{0,000007}{0,0007} = 0,0100$$

$$\frac{\mu c(r)}{r} = \sqrt{(-0,0028)^2 + (0,0011)^2 + (0,0014)^2 + (0,2073)^2 + (0,0100)^2}$$

$$\frac{\mu c(r)}{r} = 0,0015$$

• **Sampel B**

$$\text{Ketidakpastian relatif } C_0 = \frac{-0,0182}{6,3488 \text{ mg/L}} = -0,0029$$

$$\text{Ketidakpastian relatif } \mu(V) = \frac{0,0283}{25 \text{ mL}} = 0,0011$$

$$\text{Ketidakpastian faktor pengencer} = \frac{0,0143}{10} = 0,0014$$

$$\text{Ketidakpastian relatif akurasi} = \frac{7,2355}{90,6977\%} = 0,0798$$

$$\text{Ketidakpastian relatif presisi} = \frac{0,000001}{0,0001} = 0,0100$$

$$\frac{\mu c(r)}{r} = \sqrt{(-0,0029)^2 + (0,0011)^2 + (0,0014)^2 + (0,0798)^2 + (0,0100)^2}$$

$$\frac{\mu c(r)}{r} = 0,0005$$

• **Sampel C**

$$\text{Ketidakpastian relatif } C_0 = \frac{-0,0156}{4,1473 \text{ mg/L}} = -0,0038$$

$$\text{Ketidakpastian relatif } \mu(V) = \frac{0,0283}{25 \text{ mL}} = 0,0011$$

$$\text{Ketidakpastian faktor pengencer} = \frac{0,0143}{10} = 0,0014$$

$$\text{Ketidakpastian relatif akurasi} = \frac{13,5940}{88,3721\%} = 0,1538$$

$$\text{Ketidakpastian relatif presisi} = \frac{0,000003}{0,0003} = 0,0100$$

$$\frac{\mu c(r)}{r} = \sqrt{(-0,0038)^2 + (0,0011)^2 + (0,0014)^2 + (0,1538)^2 + (0,0100)^2}$$

$$\frac{\mu c(r)}{r} = 0,0006$$

• **Sampel D**

$$\text{Ketidakpastian relatif } C_0 = \frac{-0,0191}{6,7209 \text{ mg/L}} = -0,0028$$

$$\text{Ketidakpastian relatif } \mu(V) = \frac{0,0283}{25 \text{ mL}} = 0,0011$$

$$\text{Ketidakpastian faktor pengencer} = \frac{0,0143}{10} = 0,0014$$

$$\text{Ketidakpastian relatif akurasi} = \frac{9,8666}{100,9302\%} = 0,0978$$

$$\text{Ketidakpastian relatif presisi} = \frac{0,000003}{0,0003} = 0,0100$$

$$\frac{\mu c(r)}{r} = \sqrt{(-0,0028)^2 + (0,0011)^2 + (0,0014)^2 + (0,0978)^2 + (0,0100)^2}$$

$$\frac{\mu c(r)}{r} = 0,0007$$

ii. **Ketidakpastian diperluas**

$$U_r = \frac{\mu c(r)}{r} \times 2$$

- **Sampel A**

$$U_r = 0,0015 \times 2 = 0,0030$$

- **Sampel B**

$$U_r = 0,0005 \times 2 = 0,0010$$

- **Sampel C**

$$U_r = 0,0006 \times 2 = 0,0013$$

- **Sampel D**

$$U_r = 0,0007 \times 2 = 0,0013$$

Lampiran 4 Pembuatan Larutan Seri Asam Askorbat untuk Uji IC₅₀

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 = \frac{V_2 \times C_2}{C_1}$$

Keterangan :

V_1 = Volume awal larutan baku (mL)

C_1 = Konsentrasi awal larutan baku (mg/L)

V_2 = Volume akhir larutan baku (mL)

C_2 = Konsentrasi akhir larutan baku (mg/L)

Diketahui :

$$V_1 = 10 \text{ mL}$$

$$C_1 = 100 \text{ mg/L}$$

$$V_2 = 1 \text{ mg/L}, 2 \text{ mg/L}, 3 \text{ mg/L}, 4 \text{ mg/L}, 5 \text{ mg/L}$$

Ditanya :

a. Konsentrasi 1 ppm

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 = \frac{V_2 \times C_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ mL} \times 1 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}$$

$$V_1 = 0,1 \text{ mL}$$

b. Konsentrasi 2 ppm

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 = \frac{V_2 \times C_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ mL} \times 2 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}$$

$$V_1 = 0,2 \text{ mL}$$

c. Konsentrasi 3 ppm

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 = \frac{V_2 \times C_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ mL} \times 3 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}$$

$$V_1 = 0,3 \text{ mL}$$

d. Konsentrasi 4 ppm

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 = \frac{V_2 \times C_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ mL} \times 4 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}$$

$$V_1 = 0,4 \text{ mL}$$

e. Konsentrasi 5 ppm

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 = \frac{V_2 \times C_2}{C_1}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ mL} \times 5 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ mL}$$

Kesimpulan:

Volume larutan standar asam askorbat 100 ppm yang harus dipipet untuk membuat deret standar dengan konsentrasi 1; 2; 3; 4 dan 5 ppm adalah masing-masing sebanyak 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5 mL dengan volume akhir sebanyak 10 mL.

Lampiran 5 Penentuan % Inhibisi

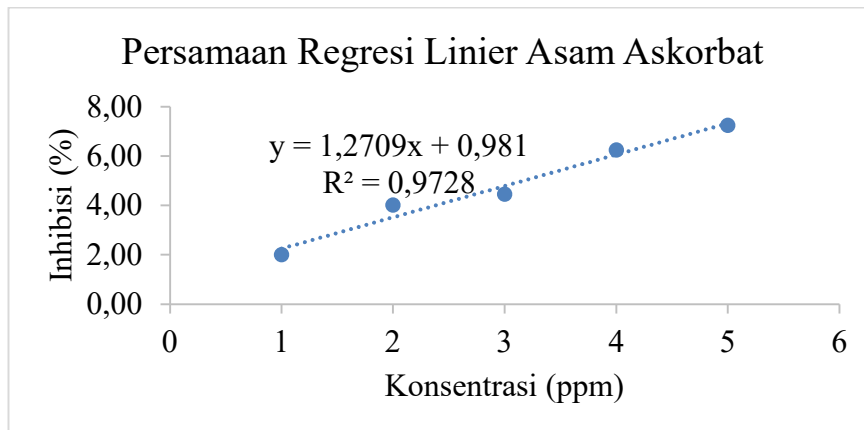
$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{A \text{ blangko} - A \text{ sampel}}{A \text{ blangko}} \times 100\%$$

a. Standar

Persamaan regresi linier

No.	C Std (mg/L)	Absorbansi				Inhibisi (%)			Rerata Inhibisi (%)	IC ₅₀ (ppm)
		1	2	3	Rerata	1	2	3		
1	1	0,2930	0,2930	0,2930	0,2930	2,01	2,01	2,01	2,01	
2	2	0,2870	0,2870	0,2870	0,2870	4,01	4,01	4,01	4,01	
3	3	0,2860	0,2850	0,2860	0,2857	4,35	4,68	4,35	4,46	38,57
4	4	0,2800	0,2800	0,2810	0,2803	6,35	6,35	6,02	6,24	
5	5	0,2770	0,2770	0,2780	0,2773	7,36	7,36	7,02	7,25	

Etanol	0,046	0,046	0,046	0,046
DPPH	0,345	0,345	0,345	0,345
kontrol				0,299



Persamaan kurva kalibrasi : $y = 1,2709x + 0,981$

Y : 50

Slope (a) : 1,2709

Intersep (b) : 0,9810

Koefisien determinasi (R^2) : 0,9728

Koefisien korelasi (R) : 0,9863

i. Konsentrasi 1 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,2930}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 2,01\%$$

ii. Konsentrasi 2 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,2870}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 4,01\%$$

iii. Konsentrasi 3 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,2857}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 4,46\%$$

iv. Konsentrasi 4 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,2803}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 6,24\%$$

v. Konsentrasi 5 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,2780}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 7,25\%$$

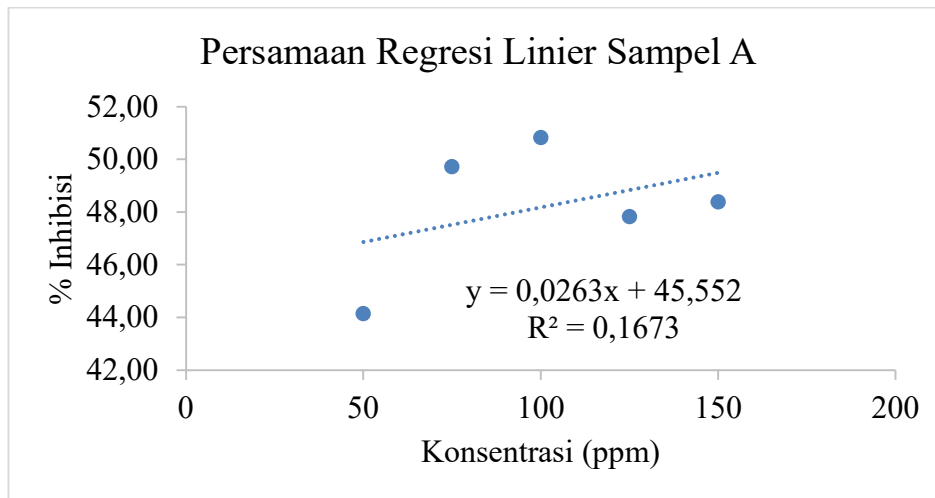
$$IC_{50} = \frac{50 - 0,9810}{1,2709}$$

$$IC_{50} = 38,57 \text{ ppm}$$

b. Sampel A

C (ppm)	Absorbansi				Inhibisi (%)			Rerata Inhibisi (%)	IC ₅₀ (ppm)
	1	2	3	Rerata	1	2	3		
50	0,167	0,167	0,167	0,167	44,15	44,15	44,15	44,15	
75	0,151	0,150	0,150	0,150	49,50	49,83	49,83	49,72	
100	0,147	0,147	0,147	0,147	50,84	50,84	50,84	50,84	169,13
125	0,156	0,156	0,156	0,156	47,83	47,83	47,83	47,83	
150	0,155	0,154	0,154	0,154	48,16	48,49	48,49	48,38	

Etanol	0,046	0,046	0,046	0,046
DPPH	0,345	0,345	0,345	0,345
Kontrol				0,299



Persamaan kurva kalibrasi : $y = 0,0263x + 45,552$

Y : 50

Slope (a) : 0,0263

Intersep (b) : 45,5520

Koefisien determinasi (R^2) : 0,1673

Koefisien korelasi (R) : 0,4090

i. Konsentrasi 50 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,1670}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 44,15\%$$

ii. Konsentrasi 75 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,1503}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 49,72\%$$

iii. Konsentrasi 100 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,1470}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 50,84\%$$

iv. Konsentrasi 125 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,1560}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 47,83\%$$

v. Konsentrasi 150 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,1543}{0,2990} \times 100\%$$

Inhibisi (%) = 48,38%

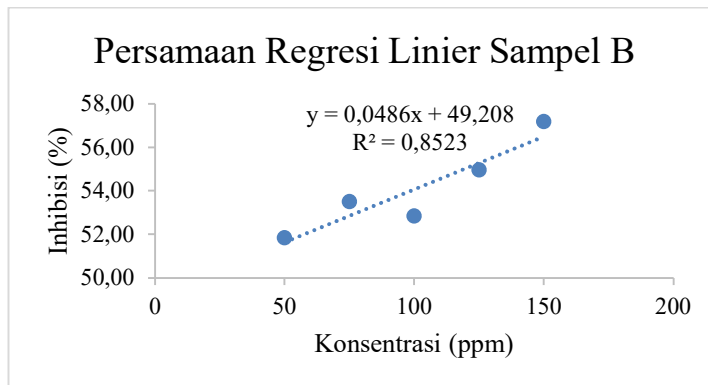
$$IC_{50} = \frac{50 - 45,5520}{0,0263}$$

$IC_{50} = 169,13$ ppm

c. Sampel B

C (ppm)	Absorbansi				Inhibisi (%)			Rerata Inhibisi (%)	IC ₅₀ (ppm)
	1	2	3	Rerata	1	2	3		
50	0,144	0,144	0,144	0,144	51,84	51,84	51,84	51,84	
75	0,139	0,139	0,139	0,139	53,51	53,51	53,51	53,51	
100	0,141	0,141	0,141	0,141	52,84	52,84	52,84	52,84	16,30
125	0,134	0,135	0,135	0,135	55,18	54,85	54,85	54,96	
150	0,128	0,128	0,128	0,128	57,19	57,19	57,19	57,19	

Etanol	0,046	0,046	0,046	0,046
DPPH	0,345	0,345	0,345	0,345
kontrol				0,299



Persamaan kurva kalibrasi : $y = 0,0486x + 49,208$

Y : 50

Slope (a) : 0,0486

Intersep (b) : 49,2080

Koefisien determinasi (R^2) : 0,1673

Koefisien korelasi (R) : 0,9232

i. Konsentrasi 50 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,1440}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 51,84\%$$

ii. Konsentrasi 75 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,1390}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 53,51\%$$

iii. Konsentrasi 100 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,1410}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 52,84\%$$

iv. Konsentrasi 125 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,1347}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 54,96\%$$

v. Konsentrasi 150 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,1280}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 57,19\%$$

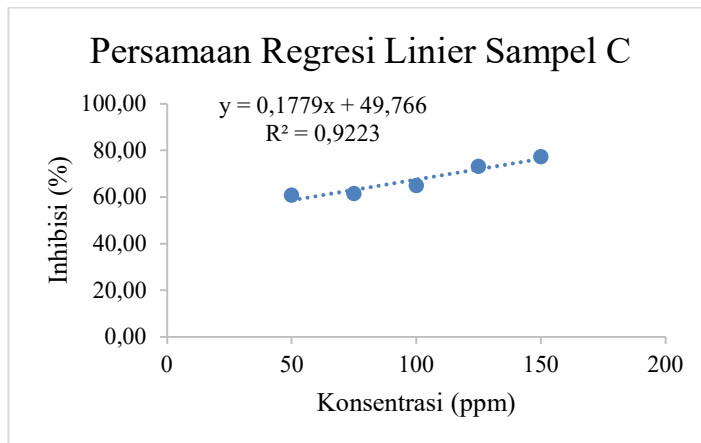
$$IC_{50} = \frac{50 - 49,2080}{0,8523}$$

$$IC_{50} = 16,30$$

d. Sampel C

C (ppm)	Absorbansi				Inhibisi (%)			Rerata	IC ₅₀
	1	2	3	Rerata	1	2	3	Inhibisi (%)	(ppm)
50	0,117	0,117	0,117	0,117	60,87	60,87	60,87	60,87	
75	0,115	0,115	0,115	0,115	61,54	61,54	61,54	61,54	
100	0,105	0,105	0,105	0,105	64,88	64,88	64,88	64,88	10,64
125	0,080	0,080	0,080	0,080	73,24	73,24	73,24	73,24	
150	0,068	0,068	0,068	0,068	77,26	77,26	77,26	77,26	

Etanol	0,046	0,046	0,046	0,046
DPPH	0,345	0,345	0,345	0,345
kontrol				0,299



Persamaan kurva kalibrasi : $y = 0,1779x + 49,766$

Y : 50

Slope (a) : 0,1779

Intersep (b) : 49,7660

Koefisien determinasi (R^2) : 0,9223

Koefisien korelasi (R) : 0,9604

i. Konsentrasi 50 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,1170}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 60,87\%$$

ii. Konsentrasi 75 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,1150}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 61,54\%$$

iii. Konsentrasi 100 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,1050}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 64,88\%$$

iv. Konsentrasi 125 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,0800}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 73,24\%$$

v. Konsentrasi 150 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,0680}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 77,26\%$$

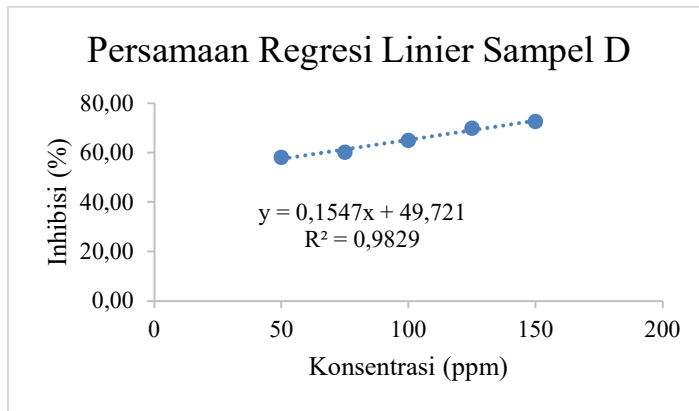
$$IC_{50} = \frac{50 - 49,7660}{0,9223}$$

$$IC_{50} = 10,64 \text{ ppm}$$

e. Sampel D

C (ppm)	Absorbansi				Inhibisi (%)			Rerata Inhibisi (%)	IC ₅₀ (ppm)
	1	2	3	Rerata	1	2	3		
50	0,125	0,125	0,125	0,1250	58,19	58,19	58,19	58,19	
75	0,119	0,119	0,119	0,1190	60,20	60,20	60,20	60,20	
100	0,105	0,104	0,105	0,1047	64,88	65,22	64,88	64,99	1,80
125	0,090	0,090	0,090	0,0900	69,90	69,90	69,90	69,90	
150	0,081	0,082	0,082	0,0817	72,91	72,58	72,58	72,69	

Etanol	0,046	0,046	0,046	0,046
DPPH	0,345	0,345	0,345	0,345
kontrol				0,299



Persamaan kurva kalibrasi : $y = 0,1547x + 49,721$

Y : 50

Slope (a) : 0,1547

Intersep (b) : 49,7210

Koefisien determinasi (R^2) : 0,9829

Koefisien korelasi (R) : 0,9914

i. Konsentrasi 50 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,1250}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 58,19\%$$

ii. Konsentrasi 75 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,1190}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 60,20\%$$

iii. Konsentrasi 100 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,1047}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 64,99\%$$

iv. Konsentrasi 125 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,0900}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 69,90\%$$

v. Konsentrasi 150 ppm

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{0,2990 - 0,0817}{0,2990} \times 100\%$$

$$\text{Inhibisi (\%)} = 72,69\%$$

$$IC_{50} = \frac{50 - 49,7210}{0,1547}$$

$$IC_{50} = 1,80 \text{ ppm}$$