

**SKRIPSI - SK234801** 

# NANOKRISTAL ORGANIK BERBASIS SENYAWA FLUORESEN TERIMOBILISASI PADA µPAD (MICROFLUIDIC PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE) UNTUK DETEKSI TRIPTAMIN

VIOLA WITYA PRADITHA NRP 5004211055

Dosen Pembimbing **Grasianto, Ph.D.** NIP. 2022199011006

Sarjana Kimia Departemen Kimia Fakultas Sains Dan Analitika Data Institut Teknologi Sepuluh Nopember 2025



FINAL PROJECT - SK234801

# ORGANIC NANOCRYSTALS OF FLUORESCENT COMPOUND IMMOBILIZED ON µPAD (MICROFLUIDIC PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE) FOR TRYPTAMINE DETECTION

VIOLA WITYA PRADITHA NRP 5004211055

Supervisor **Grasianto, Ph.D.** NIP. 2022199011006

Bachelor of Chemistry
Department of Chemistry
Faculty of Sains and Data Analytics
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
2025



**SKRIPSI - SK234801** 

# NANOKRISTAL ORGANIK BERBASIS SENYAWA FLUORESEN TERIMOBILISASI PADA µPAD (MICROFLUIDIC PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE) UNTUK DETEKSI TRIPTAMIN

VIOLA WITYA PRADITHA NRP 5004211055

Dosen Pembimbing **Grasianto, Ph.D.** NIP. 2022199011006

Sarjana Kimia Departemen Kimia Fakultas Sains Dan Analitika Data Institut Teknologi Sepuluh Nopember 2025



### FINAL PROJECT - SK234801

# ORGANIC NANOCRYSTALS BASED ON FLUORESCENT COMPOUND IMMOBILIZED ON µPAD (MICROFLUIDIC PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE) FOR TRYPTAMINE DETECTION

VIOLA WITYA PRADITHA NRP 5004211055

Supervisor **Grasianto, Ph.D.** NIP. 2022199011006

**Bachelor of Chemistry** 

Department of Chemistry Faculty of Sains and Data Analytics Institut Teknologi Sepuluh Nopember 2025

#### LEMBAR PENGESAHAN

# NANOKRISTAL ORGANIK BERBASIS SENYAWA FLUORESEN TERIMOBILISASI PADA μPAD (MICROFLUIDIC PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE) UNTUK DETEKSI TRIPTAMIN

#### SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
memperoleh gelar Sarjana Sains pada
Program Studi S-1 Kimia
Departemen Kimia
Fakultas Sains dan Analitika Data
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh : VIOLA WITYA PRADITHA NRP. 5004211055

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir

1. Grasianto, Ph.D.

Pembimbing

2. Prof. Dr.rer.nat. Fredy Kurniawan, M.Si. Penguji

3. Prof. Hamzah Fansuri, M.Si.,

Penguji

Ph.D.

#### APPROVAL SHEET

# ORGANIC NANOCRYSTALS BASED ON FLUORESCENT COMPOUNDS IMMOBILIZED ON µPAD (MICROFLUIDIC PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE) FOR TRYPTAMINE DETECTION

#### FINAL PROJECT

Submitted to fulfill one of the requirements
for obtaining a degree Bachelor of Science at
Undergraduate Study Program of Chemistry
Department of Chemistry
Faculty of Science and Data Analytics
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

# By: VIOLA WITYA PRADITHA NRP. 5004211055

Approved by Final Project Examiner Team:

1. Grasianto, Ph.D.

Advisor

2. Prof. Dr.rer.nat. Fredy Kurniawan, M.Si. Examiner

3. Prof. Hamzah Fansuri, M.Si.,

Examiner

Ph.D.



### PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama mahasiswa / NRP : Viola Witya Praditha / 5004211055

Departemen : Kimia

Dosen Pembimbing / NIP: Grasianto Ph.D. / 2022199011006

dengan ini menyatakan bahwa Tugas Akhir dengan judul "Nanokristal Organik Berbasis Senyawa Fluoresen Terimobilisasi pada μPAD (Microfluidic Paper-Based Analytical Device) untuk Deteksi Triptamin" adalah hasil karya sendiri, bersifat orisinal, dan ditulis dengan mengikuti kaidah penulisan ilmiah.

Bilamana di kemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan yang berlaku di Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Surabaya, 21 Juli 2025

Mengetahui Dosen Pembimbing

(Grasianto, Ph.D.)

NIP. 2022199011006

Mahasiswa

(Viola Witya Praditha) NRP. 5004211055

### STATEMENT OF ORIGINALITY

The undersigned below:

Name of student / NRP: Viola Wity Praditha / 5004211055

Department : Chemistry

Advisor / NIP : Grasianto, Ph.D. / 2022199011006

hereby declare that the Final Project with the title of "Organic Nanocrystals Based Fluorescent Compound Immobilized on µPAD (Microfluidic Paper-Based Analytical Device) for Tryptamine Detection" is the result of my own work, is original, and is written by following the rules of scientific writing.

If in the future there is a discrepancy with this statement, then I am willing to accept sanctions in accordance with the provisions that apply at Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Surabaya, 21 July 2025

Acknowledged

Advisor

(Grasianto, Ph.D.)

NIP. 2022199011006

Student

(Viola Witya Praditha) NRP. 5004211055

# NANOKRISTAL ORGANIK BERBASIS SENYAWA FLUORESEN TERIMOBILISASI PADA µPAD (MICROFLUIDIC PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE) UNTUK DETEKSI TRIPTAMIN

Nama Mahasiswa / NRP. : Viola Witya Praditha / 5004211055

Departemen : Kimia

Dosen Pembimbing : Grasianto, Ph.D.

#### Abstrak

Triptamin merupakan salah satu amina biogenik yang terbentuk secara alami melalui dekarboksilasi asam amino triptofan. Keberadaannya dalam produk pangan fermentasi, seperti kecap asin, dapat menjadi indikator kualitas dan keamanan pangan karena akumulasi triptamin yang berlebih bersifat toksik. Penelitian ini bertujuan mengembangkan metode deteksi triptamin yang cepat, murah, dan selektif menggunakan nanokristal organik berbasis senyawa fluoresen yaitu BHB (3-(2-benzotiazolil)-4-hidroksibenzena sulfonat) yang terimobilisasi pada Microfluidic Paper-Based Analytical Device (µPAD). Nanokristal BHB dipreparasi melalui metode represipitasi dan dikarakterisasi menggunakan Particle Size Analyzer (PSA) untuk mengidentifikasi ukuran partikel berada dalam skala nano. Material ini kemudian diimobilisasi pada area uji µPAD dan dianalisis terhadap triptamin dalam berbagai konsentrasi untuk menguji sensitivitas deteksi. Pengujian juga dilakukan terhadap berbagai amina biogenik untuk menguji selektivitasnya. Demonstrasi dilakukan untuk menguji kinerja sistem deteksi pada sampel nyata berupa kecap asin. Deteksi dilakukan berdasarkan perubahan warna fluoresensi yang diamati menggunakan sinar UV dan dianalisis secara kuantitatif dengan perangkat lunak ImageJ menggunakan model warna CIELAB. Hasil uji sensitivitas menunjukkan bahwa sistem ini mampu mendeteksi triptamin dengan perubahan warna fluoresensi yang jelas dan memberikan nilai batas deteksi (LOD) yang rendah berdasarkan perhitungan regresi linier. Hasil uji selektivitas menunjukkan BHB selektif terhadap triptamin, ditunjukkan dengan perubahan warna signifikan yang tidak diamati pada amina biogenik lain. Aplikasi pada sampel nyata menghasilkan perubahan warna yang mengindikasikan keberadaan triptamin, sehingga efektif dalam mendeteksi analit target pada matriks kompleks. Perangkat µPAD yang dimodifikasi dengan nanokristal BHB menunjukkan potensi kuat sebagai platform analitik sederhana, murah, dan portabel untuk deteksi triptamin.

Kata kunci: Triptamin, Microfluidic Paper-Based Analytical Device, BHB, Nanokristal, Fluoresen, Sensitivitas

# ORGANIC NANOCRYSTALS BASED FLUORESCENT COMPOUND IMMOBILIZED ON µPAD (MICROFLUIDIC PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE) FOR TRYPTAMINE DETECTION

Student Name / NRP. : Viola Witya Praditha / 5004211055

Department : Chemistry Advisor : Grasianto, Ph.D.

#### Abstract

Tryptamine is one of the biogenic amines that is formed naturally through the decarboxylation of the amino acid tryptophan. Its presence in fermented food products, such as soy sauce, can be an indicator of food quality and safety because excessive accumulation of tryptamine is toxic. This study aims to develop a rapid, low-cost, and selective tryptamine detection method using organic nanocrystals based on fluorescent compounds, namely BHB (3-(2benzothiazolyl)-4-hydroxybenzene sulfonate) immobilized on a Microfluidic Paper-Based Analytical Device (µPAD). BHB nanocrystals were prepared through the reprecipitation method and characterized using a Particle Size Analyzer (PSA) to identify particle sizes on the nanoscale. This material was then immobilized in the µPAD test area and analyzed against tryptamine in various concentrations to test the detection sensitivity. Tests were also carried out on various biogenic amines to test their selectivity. A demonstration was carried out to test the performance of the detection system on real samples in the form of soy sauce. Detection was carried out based on the fluorescence color change observed using UV light and quantitatively analyzed with ImageJ software using the CIELAB color model. The sensitivity test results showed that this system was able to detect tryptamine with a clear fluorescence color change and provided a low limit of detection (LOD) value based on linear regression calculations. The selectivity test results showed that BHB was selective for tryptamine, indicated by a significant color change that was not observed in other biogenic amines. Application to real samples resulted in a color change indicating the presence of tryptamine, making it effective in detecting target analytes in complex matrices. The µPAD device modified with BHB nanocrystals showed strong potential as a simple, inexpensive, and portable analytical platform for tryptamine detection.

Keywords: Tryptamine, Microfluidic Paper-Based Analytical Device, BHB, Nanocrystals, Fluorescent, Sensitivity

#### KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat, taufik, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Nanokristal Organik Berbasis Senyawa Fluoresen Terimobilisasi pada μPAD (Microfluidic Paper-Based Analytical Device) untuk Deteksi Triptamin" dengan baik. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, dukungan, dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

- 1. Bapak Grasianto, Ph.D., selaku dosen pembimbing, atas dedikasi dan bimbingan yang luar biasa dalam memberikan arahan, masukan, dan motivasi selama proses penyusunan skripsi ini.
- 2. Prof. Hamzah Fansuri, S.Si., M.Si., Ph.D., selaku dosen wali, atas arahan, motivasi, dan dukungan akademik selama masa studi di Departemen Kimia.
- 3. Prof. Suprapto, M.Si., Ph.D., selaku Kepala Laboratorium Instrumentasi dan Sains Analitik, atas fasilitas yang telah diberikan selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.
- 4. Ibu Fataty Kurnia, selaku analis Laboratorium Instrumentasi dan Sains Analitik, atas arahan, bantuan teknis, dan dukungan yang diberikan selama proses penelitian.
- 5. Ayah dan Ibu tercinta, atas segala doa, cinta, dukungan moral dan materiil, serta kasih sayang yang tulus dan tak pernah henti, yang telah menjadi kekuatan utama dalam setiap langkah penulis menyelesaikan pendidikan dan penyusunan skripsi ini.
- 6. Kak Vina dan Viona tersayang, atas segala doa, dukungan, dan semangat yang tak pernah putus, yang telah menemani penulis dalam menyelesaikan studi dan skripsi ini.
- 7. Teman-teman GNP (Grasi's Nano Project) yang luar biasa, atas semangat, diskusi yang membangun, serta bantuan dan kerja sama selama proses bimbingan dan penyusunan skripsi ini.
- 8. Elfa, Veva, Andika, dan teman-teman PLH SIKLUS ITS lainnya, yang selalu hadir dengan bantuan, dukungan, candaan, kebersamaan, serta menjadi teman berbagi cerita dan keluh kesah selama proses pengerjaan skripsi ini.
- 9. Della dan Eka, kakak tingkat yang telah memberikan dukungan serta bantuan selama proses penyusunan skripsi ini.
- 10. Andhini, Shafira, dan teman-teman Departemen Kimia lainnya, atas segala bantuan, semangat, kebersamaan, serta waktu untuk berbagi cerita dan diskusi selama proses penyusunan skripsi ini.
- 11. Vanya dan Sella atas semangat, dukungan, dan kebersamaan yang selalu menjadi teman cerita dan berbagi selama ini.
- 12. Kopi Kenangan Sulawesi, yang telah menjadi tempat favorit dan nyaman bagi penulis dalam menyelesaikan skripsi selama ini.
- 13. Serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu oleh penulis.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, sehingga segala bentuk saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis maupun pembaca.

Surabaya, Juli 2025

Viola Witya Praditha

# **DAFTAR ISI**

APPROVAL SHEET	i
PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
STATEMENT OF ORIGINALITY	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	
DAFTAR GAMBAR	
DAFTAR TABEL	
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	
1.2 Rumusan Permasalahan	
1.4 Tujuan	
1.5 Manfaat	
2.1 Hasil Penelitian / Perancangan Terdahulu	
2.2 Teori/Konsep Dasar	
2.2.1 Microfluidic Paper-Based Analytical Device (µPAD)	
2.2.2 Nanokristal Organik	
2.2.3 Metode Represipitasi	
2.2.4 Senyawa 3-(2-benzotiazolil)-4-hidroksibenzena Sulfonat (BHB)	
2.2.5 Amina Biogenik	
2.2.6 Triptamin	8
2.2.7 ImageJ	9
2.2.8 Particle Size Analyzer (PSA)	10
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	12
3.1 Metode yang Digunakan	
3.2 Bahan dan Peralatan yang Digunakan	
3.3 Urutan Pelaksanaan Penelitian	
	1.7
3.3.1 Pembuatan μPAD	
3.3.1 Pembuatan μPAD	13
3.3.1 Pembuatan µPAD	13
<ul> <li>3.3.1 Pembuatan μPAD</li> <li>3.3.2 Preparasi dan Karakterisasi Nanokristal BHB</li> <li>3.3.3 Imobilisasi Nanokristal BHB pada μPAD</li> </ul>	13 13
<ul> <li>3.3.1 Pembuatan μPAD</li> <li>3.3.2 Preparasi dan Karakterisasi Nanokristal BHB</li> <li>3.3.3 Imobilisasi Nanokristal BHB pada μPAD</li> <li>3.3.4 Pembuatan Larutan Triptamin Konsentrasi Bertingkat</li> </ul>	13 13 13
<ul> <li>3.3.1 Pembuatan μPAD</li></ul>	13 13 13 13
<ul> <li>3.3.1 Pembuatan μPAD</li></ul>	13 13 13 14
<ul> <li>3.3.1 Pembuatan μPAD</li></ul>	13 13 13 14 14
<ul> <li>3.3.1 Pembuatan μPAD</li></ul>	131313141414
3.3.1 Pembuatan μPAD	
3.3.1 Pembuatan µPAD	

4.4 Hasil Respons Warna μPAD Terimobilisasi BHB terhadap Triptamin	19
4.5 Hasil Uji Selektivitas BHB terhadap Amina Biogenik	20
4.6 Hasil Demonstrasi pada Sampel Nyata	21
4.7 Hasil Analisis Perubahan Warna dengan ImageJ	23
4.7.1 Analisis μPAD yang Terimobilisasi BHB	23
4.7.2 Analisis Respons Warna μPAD Terimobilisasi BHB terhadap Triptamin	23
4.7.3 Hasil Analisis Uji Selektivitas BHB terhadap Amina Biogenik	25
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	26
5.1 Kesimpulan	26
5.2 Saran	
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	31
BIODATA PENULIS	54

# **DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2. 1 Skema Metode Represipitasi
Gambar 2. 2 Struktur 3-(2-benzotiazolil)-4-hidroksibenzena Sulfonat (BHB)
Gambar 2. 3 Struktur Triptamin
Gambar 2. 4 Standar CIELAB Color Space
Gambar 4. 1 Hasil µPAD17
Gambar 4. 2 Larutan BHB pada a) cahaya tampak, b) UV 254 nm, dan c) UV 365 nm 18
Gambar 4. 3 Profil Distribusi Ukuran Nanokristal BHB
Gambar 4. 4 µPAD terimobilisasi nanokristal BHB saat disinari lampu UV pada panjang
gelombang a) 254 nm dan b) 365 nm
Gambar 4. 5 Perubahan warna pada µPAD yang terimobilisasi BHB setelah penambahan
triptamin dengan konsentrasi bertingkat di bawah penyinaran UV 254 nm20
Gambar 4. 6 Respons µPAD a) sebelum dan b) setelah penambahan amina biogenik,21
Gambar 4. 7 Perubahan warna area uji µPAD a) sebelum dan b) sesudah penambahan kecap
asin pada berbagai pengenceran dan waktu inkubasi
Gambar 4. 8 Grafik nilai Lo (komponen warna lightness) awal pada berbagai konsentrasi
triptamin23
Gambar 4. 9 Kurva linear hubungan antara konsentrasi triptamin dan perubahan warna (ΔL)
24
Gambar 4. 10 Grafik perubahan warna (ΔL) setelah penambahan berbagai amina
biogenik
Gambar D. 1 Konversi citra µPAD terimobilisasi BHB berdasarkan komponen
warna
Gambar D. 2 Konversi citra µPAD sebelum penambahan amina biogenik berdasarkan
, · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
komponen warna (a) gambar asli dalam RGB, (b) L*, (c) a*, dan (d) b*
Gambar D. 3 Grafik hubungan antara a <sub>o</sub> dan konsentrasi triptamin
Gambar D. 4 Grafik hubungan antara b <sub>o</sub> dan konsentrasi triptamin
Gambar D. 5 Grafik hubungan antara konsentrasi triptamin dan perubahan warna ( $\Delta a$ )
Gambar D. 6 Grafik hubungan antara konsentrasi triptamin dan perubahan warna ( $\Delta b$ )42
Gambar D. 7 Grafik hubungan antara konsentrasi triptamin dan perubahan warna ( $\Delta E$ )42
Gambar D. 8 Konversi citra µPAD sebelum penambahan amina biogenik berdasarkan
komponen warna (a) gambar asli dalam RGB, (b) L*, (c) a*, dan (d) b*
Gambar D. 9 Konversi citra μPAD setelah penambahan amina biogenik berdasarkan komponer
warna (a) gambar asli dalam RGB, (b) L*, (c) a*, dan (d) b*
Gambar D. 10 Grafik perubahan warna (Δa) setelah penambahan berbagai amina biogenik 44
Gambar D. 11 Grafik perubahan warna (Δb) setelah penambahan berbagai amina biogenik .45
Gambar D. 12 Grafik perubahan warna (ΔE) setelah penambahan berbagai amina biogenik .45
Gambar D. 13 Konversi citra µPAD sebelum penambahan sampel kecap asin berdasarkan
komponen warna (a) gambar asli dalam RGB, (b) L*, (c) a*, dan (d) b*46
Gambar D. 14 Konversi citra µPAD setelah penambahan sampel kecap asin berdasarkan
komponen warna (a) gambar asli dalam RGB, (b) L*, (c) a*, dan (d) b*46
Gambar D. 15 Grafik perubahan warna (ΔL) pada hari ke-0 terhadap variasi pengenceran
sampel48
Gambar D. 16 Grafik perubahan warna (Δa) pada hari ke-0 terhadap variasi pengenceran
sampel48
Gambar D. 17 Grafik perubahan warna (Δb) pada hari ke-0 terhadap variasi pengenceran
sampel

Gambar sampel		18	Grafik	perubahan	warna	(ΔΕ)	pada	hari	ke-0	terhadap	variasi	pengenceran
Gambar sampel				_			_			_		pengenceran 50
	D.	20	Grafik	perubahan	warna	$(\Delta a)$	pada	hari	ke-3	terhadap	variasi	pengenceran
Gambar sampel												pengenceran
	D.	22	Grafik	perubahan	warna	$(\Delta E)$	pada	hari	ke-3	terhadap	variasi	pengenceran
Gambar	D.	23	Grafik	perubahan	warna	$(\Delta L)$	pada	hari	ke-7	terhadap	variasi	pengenceran
Gambar sampel	D.	24	Grafik	perubahan		` ′	-			-		pengenceran
				-	warna	$(\Delta b)$	pada	hari	ke-7	terhadap	variasi	pengenceran 53
Gambar	D.	26	Grafik	perubahan	warna	$(\Delta E)$	pada	hari	ke-7	terhadap	variasi	pengenceran
1												

# **DAFTAR TABEL**

Tabel C. 1 Rincian Volume Pengenceran Bertingkat Larutan Triptamin	.37
Tabel C. 2 Perhitungan Massa Berbagai Amina Biogenik	.37
Tabel D. 1 Nilai komponen warna sebelum (Lo, ao, bo) dan sesudah (L1, a1, b1) penambal	har
triptamin pada berbagai konsentrasi dan tiga pengulangan	39
Tabel D. 2 Nilai rata-rata ΔL, Δa, Δb, dan ΔE pada berbagai konsentrasi triptamin	
Tabel D. 3 Nilai komponen warna sebelum (Lo, ao, bo) dan setelah (L1, a1, b1)	.43
Tabel D. 4 Nilai ΔL, Δa, Δb, dan ΔE pada berbagai amina biogenik	
Tabel D. 5 Nilai komponen warna sebelum (Lo, ao, bo) dan setelah (L1, a1, b1)	.46
Tabel D. 6 Nilai ΔL, Δa, Δb, dan ΔE pada berbagai variasi pengenceran sampel	

### BAB I PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Amina biogenik (BA) merupakan senyawa basa organik bermolekul kecil yang bersifat polar maupun semipolar, dengan berat molekul rendah. Senyawa ini berperan dalam berbagai peran fisiologis penting dalam tubuh manusia, serta terbentuk secara alami melalui metabolisme organisme hidup. BA juga dapat hadir secara alami dalam sel hidup dan terbentuk dalam makanan melalui dekarboksilasi asam amino bebas oleh aktivitas mikroba atau pemanasan termal. Proses pembentukan ini umumnya terjadi selama produksi, pemrosesan, dan penyimpanan makanan (Dala-Paula dkk., 2023). Secara umum, BA dapat terbentuk dalam berbagai jenis makanan yang mengandung asam amino bebas atau protein, khususnya jika makanan tersebut mengalami kondisi yang mendukung aktivitas mikroorganisme atau proses biokimia tertentu (Neofotistos dkk., 2019). Triptamin merupakan salah satu BA yang terbentuk dari dekarboksilasi L-triptofan (Arranz dkk., 2025).

BA banyak ditemukan dalam rantai pasokan produk pangan, terutama pada ikan, daging, susu, dan makanan fermentasi yang kaya protein. Kandungan BA dalam pangan berkaitan erat dengan mutu dan aspek keamanan, mengingat proses pembusukan serta kerusakan bahan pangan dapat memicu akumulasi BA dalam jumlah besar. Di dalam tubuh manusia, BA memiliki peran penting dalam berbagai proses fisiologis. Namun demikian, konsumsi BA secara berlebihan dan akumulatif dapat menimbulkan berbagai reaksi merugikan, seperti mual, reaksi alergi, diare, gangguan pernapasan, keringat dingin, palpitasi jantung, sakit kepala, ruam kemerahan pada kulit, serta fluktuasi tekanan darah, bahkan dalam beberapa kasus dapat mengancam keselamatan jiwa (Tang dkk., 2024)

Pengendalian dan pemantauan BA sangat penting, tidak hanya karena dampaknya terhadap kesehatan dan toksikologi, tetapi juga karena senyawa ini berfungsi sebagai indikator penting untuk menilai kualitas pada beberapa produk pangan. Menjaga kualitas tersebut juga menjadi bagian dari upaya untuk menjamin keamanan pangan. Kualitas pangan sendiri mencakup aspek-aspek utama seperti keamanan, kandungan gizi, ketersediaan, kemudahan konsumsi, integritas produk, serta kesegarannya. Dengan perannya sebagai indikator kesegaran dan kualitas produk pangan, keberadaan BA perlu dimonitoring secara intensif untuk menjamin keamanan dan mutu pangan (Ruiz-Capillas & Herrero, 2019).

Saat ini, deteksi dan analisis BA umumnya dilakukan dengan berbagai teknik kromatografi seperti High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Chromatography (GC), dan Capillary Electrophoresis (CE) yang dikombinasikan dengan deteksi spektroskopi atau spektrometri massa untuk memperoleh sensitivitas dan selektivitas tinggi (Tang dkk., 2024). Namun, metode-metode ini umumnya membutuhkan instrumen berbiaya tinggi, prosedur preparasi sampel yang kompleks, serta analis dengan keahlian khusus (Park dkk., 2013). Salah satu alternatif yang menjanjikan adalah perangkat mikrofluida berbasis kertas (Microfluidic Paper-based Analytical Device atau μPAD) yang menggabungkan prinsip kapilaritas kertas yang memungkinkan aliran cairan secara pasif tanpa listrik atau pompa dengan kemampuan sistem mikrofluida konvensional berbahan plastik, kaca, atau silikon. μPAD memungkinkan manipulasi volume cairan yang sangat kecil, pengujian secara simultan dalam satu perangkat, serta penerapan analisis bertahap secara berurutan. Dengan karakteristiknya yang murah, portabel, dan tidak memerlukan listrik maupun peralatan tambahan, µPAD menjadi platform yang menjanjikan untuk pengujian kualitas secara cepat, terutama pada kondisi dengan keterbatasan sumber daya (Martinez dkk., 2019).

Dalam konteks aplikasi µPAD, nanokristal menawarkan keunggulan dalam peningkatan sensitivitas dan selektivitas karena luas permukaan yang tinggi dan kemampuannya berinteraksi

spesifik dengan senyawa target (Li dkk., 2019). Dengan karakteristik ini, material nanokristal organik sangat potensial untuk dikembangkan dalam sistem sensor pada µPAD. Salah satu senyawa yang berpotensi diaplikasikan adalah 3-(2-benzotiazolil)-4-hidroksibenzena sulfonat (BHB) yang dikenal memiliki sifat fluoresensi kuat serta struktur molekul yang mendukung interaksi selektif dengan molekul target tertentu (Nakane dkk., 2018).

#### 1.2 Rumusan Permasalahan

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini mengangkat permasalahan mengenai bagaimana mengembangkan metode deteksi triptamin menggunakan µPAD dengan memanfaatkan nanokristal BHB sebagai material sensor. Penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui bagaimana respons BHB terhadap triptamin, menentukan rentang konsentrasi triptamin yang memberikan respons paling sesuai untuk sistem deteksi, serta menguji selektivitas BHB terhadap beberapa amina biogenik lainnya.

#### 1.3 Batasan Masalah

Penelitian ini difokuskan pada pengembangan metode deteksi triptamin menggunakan  $\mu$ PAD yang telah terimobilisasi dengan BHB sebagai material sensor. Ruang lingkup penelitian dibatasi pada pengamatan perubahan warna sebagai respons interaksi antara BHB dan triptamin. Rentang konsentrasi triptamin yang diuji ditentukan secara terbatas untuk memperoleh rentang optimal dari sistem deteksi berbasis  $\mu$ PAD ini. Selain itu, dilakukan pula pengujian selektivitas terhadap beberapa amina biogenik lain yang relevan, seperti triptofan, lisin, serin, asam glutamat, urea, sistein, dan arginin. Demonstrasi dilakukan secara terbatas pada sampel nyata berupa kecap asin dengan variasi hari ke-0, 3, dan 7, serta difokuskan pada deteksi kualitatif berdasarkan perubahan warna visual.

#### 1.4 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi potensi μPAD sederhana yang dimodifikasi dengan nanokristal organik BHB dalam mendeteksi triptamin.

#### 1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk menawarkan metode alternatif yang cepat, murah, dan portabel untuk metode deteksi triptamin serta memberikan informasi ilmiah mengenai pemanfaatan senyawa BHB dalam bentuk nanokristal untuk pengembangan metode deteksi fluoresensi pada μPAD.

# BAB II TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Hasil Penelitian / Perancangan Terdahulu

Penelitian terdahulu diperlukan untuk memberikan landasan teoritis sekaligus memperkuat relevansi dan kontribusi dari penelitian ini. Dalam konteks pengembangan metode deteksi triptamin, berbagai pendekatan berbasis perangkat analitik portabel, material fluoresen, dan pemrosesan citra digital telah banyak dikaji untuk meningkatkan sensitivitas dan selektivitas sistem sensor. Martinez dkk., (2019) menjelaskan bahwa Microfluidic Paper-Based Analytical Device (µPAD) merupakan platform analisis yang sangat menjanjikan karena memungkinkan pengujian cepat, murah, dan portabel, khususnya bila dikombinasikan dengan perangkat lunak seperti ImageJ untuk analisis kuantitatif berbasis warna. Dalam konteks material sensor, Nakane dkk., (2018) berhasil mengembangkan senyawa 3-(2-benzotiazolil)-4hidroksibenzena sulfonat (BHB), yang memiliki sifat fluoresensi kuat melalui mekanisme Excited-State Intramolecular Proton Transfer (ESIPT). Senyawa ini menunjukkan perubahan warna yang tajam saat berinteraksi dengan senyawa amina, sehingga sangat relevan untuk diterapkan sebagai material aktif dalam sistem sensor berbasis µPAD. Penelitian oleh Krishnaveni dkk., (2019) juga mendukung bahwa sistem sensor berbasis perubahan fotofisika seperti ESIPT sangat efektif untuk mendeteksi triptamin secara selektif, bahkan pada kadar sangat rendah. Selain itu, Van Lommel dkk., (2022) menekankan pentingnya interaksi  $\pi$ - $\pi$  dan ikatan hidrogen dalam menentukan selektivitas sensor terhadap molekul target, di mana keberadaan cincin aromatik pada triptamin dan BHB memungkinkan terbentuknya interaksi spesifik yang tidak terjadi pada amina lain. Dalam aspek aplikatif, Li dkk. (2019) melaporkan bahwa produk fermentasi seperti kecap asin mengandung berbagai amina biogenik termasuk triptamin, sehingga menjadi sampel yang relevan untuk evaluasi keamanan pangan. Kombinasi antara platform µPAD, nanokristal BHB, dan analisis citra digital ini menjadi strategi inovatif yang menjanjikan dalam mendeteksi triptamin secara selektif dan sensitif di berbagai matriks kompleks.

#### 2.2 Teori/Konsep Dasar

#### 2.2.1 Microfluidic Paper-Based Analytical Device (µPAD)

Perangkat analisis berbasis kertas mikrofluida (Microfluidic Paper-based Analytical Device atau μPAD) merupakan sistem mikrofluida yang dirancang menggunakan substrat kertas dengan pola tinta hidrofobik untuk membentuk saluran hidrofilik dan area uji yang spesifik. Teknologi ini memungkinkan manipulasi volume cairan dalam skala kecil dan berfungsi sebagai platform portabel untuk analisis kimia atau biologis. Mekanisme aliran cairan dalam μPAD bergantung pada aksi kapiler sehingga tidak memerlukan pompa eksternal. Hal ini menjadikannya solusi yang lebih sederhana dan ekonomis dibandingkan perangkat mikrofluida konvensional. Akibat karakteristik tersebut, μPAD dianggap sebagai platform yang sangat potensial untuk aplikasi analisis kualitatif maupun kuantitatif di lapangan, terutama dalam kondisi dengan keterbatasan sumber daya (Vazquez-Alvarado dkk., 2023).

Perangkat µPAD mengintegrasikan karakteristik khas kertas dengan berbagai keunggulan perangkat mikrofluida konvensional berbahan dasar plastik, kaca, atau silikon. Keunggulan tersebut antara lain mencakup kemampuan untuk menangani volume cairan dalam skala mikro, melakukan analisis multi parameter secara simultan, dan menjalankan prosedur pengujian bertahap dalam satu platform. Selain itu, perangkat ini bersifat murah, portabel, dan dapat beroperasi tanpa ketergantungan pada sumber daya listrik maupun instrumen tambahan.

Oleh karena itu, µPAD memiliki potensi besar sebagai solusi diagnostik *point-of-care*, terutama di lingkungan dengan keterbatasan sumber daya (Martinez dkk., 2019).

Karakteristik khas dari μPAD terletak pada penggunaannya terhadap substrat kertas yang dipola untuk membentuk jaringan saluran mikro dan zona uji. Struktur ini memungkinkan cairan diserap dan dialirkan secara pasif melalui mekanisme kapilaritas alami kertas. Dengan desain yang terstruktur, μPAD mampu mengarahkan aliran cairan sehingga interaksi antara sampel dan reagen dapat terjadi dalam urutan yang diinginkan. Hal ini memungkinkan pelaksanaan berbagai jenis pengujian dalam satu platform. Salah satu aspek teknis yang krusial dalam pengembangan μPAD adalah pengendalian laju aliran kapiler karena dapat secara langsung memengaruhi waktu reaksi dan akurasi hasil pengujian. Pengaturan ini dapat dicapai melalui pemilihan jenis kertas yang memiliki karakteristik fisik tertentu, seperti ukuran pori dan tingkat porositas, serta dengan mengatur dimensi geometri saluran untuk mengoptimalkan kecepatan aliran fluida (Nishat dkk., 2021).

Proses fabrikasi perangkat mikrofluida berbasis kertas secara umum terdiri atas dua tahapan utama, yaitu pembentukan pola pada permukaan kertas untuk menciptakan saluran mikrofluida dan modifikasi perangkat sesuai dengan aplikasi yang ditargetkan, termasuk penambahan reagen secara spesifik pada area uji. Sebagian besar metode fabrikasi diawali dengan pembuatan desain perangkat menggunakan perangkat lunak berbasis komputer seperti AutoCAD, Clewin, CorelDRAW, atau Adobe Illustrator yang menyediakan fitur-fitur untuk keperluan desain mikrofluida. Desain ini kemudian direalisasikan ke permukaan kertas melalui berbagai teknik pencetakan, yang bertujuan membentuk pola penghalang hidrofobik guna mengarahkan aliran cairan di saluran hidrofilik. Metode yang paling umum digunakan adalah pencetakan lilin, dimana lilin cair dicetak lalu dipanaskan agar meresap ke dalam kertas. Teknik ini populer karena sederhana dan cepat, meski kini terkendala ketersediaan printer tinta padat. Pencetakan inkjet juga banyak digunakan karena printer mudah ditemukan dan murah, namun memerlukan beberapa kali cetak karena volume tinta yang sangat kecil. Teknik fleksografi cocok untuk produksi skala besar karena mendukung sistem rol-ke-rol, namun kurang efisien untuk skala laboratorium. Sablon menawarkan fleksibilitas tinta, tetapi kurang praktis untuk desain yang sering berubah karena membutuhkan layar baru tiap pola. Terakhir, pencetakan laser menjadi alternatif yang menjanjikan karena printer laser tersedia luas dan hasil cetaknya tahan terhadap pelarut, meskipun membutuhkan suhu pemanasan yang lebih tinggi. Semua metode ini bergantung pada perubahan sifat permukaan yang biasanya disertai perubahan warna untuk membentuk jalur aliran cairan yang terlihat jelas di atas kertas (Nishat dkk., 2021).

Sejak awal pengembangannya, µPAD dirancang sebagai platform diagnostik point-ofcare yang dapat digunakan di wilayah terpencil atau lingkungan dengan keterbatasan sumber daya. Studi awal menunjukkan bahwa perangkat ini mampu mendeteksi metabolit sederhana melalui metode uji kolorimetri. Selain itu, penelitian tersebut mengungkapkan kemampuan μPAD untuk melakukan deteksi multi parameter secara simultan dengan volume sampel yang minimal, serta kemampuan penyimpanan reagen uji yang telah dikeringkan secara stabil pada perangkat selama proses fabrikasi. Penelitian lanjutan memperluas aplikasi µPAD dengan deteksi berbagai jenis analit, termasuk ion, molekul kecil, protein, antibodi, DNA, dan sel, melalui adaptasi berbagai teknik analisis pada perangkat berbasis kertas ini. Namun, dalam banyak aplikasi klinis, diperlukan pengukuran kuantitatif analit. Oleh karena itu, µPAD dikombinasikan dengan instrumen yang mudah diakses secara luas, seperti kamera digital dan smartphone untuk memungkinkan analisis kuantitatif. Salah satu metode kuantifikasi yang umum digunakan adalah Digital Image Colorimetry (DIC), dimana citra warna hasil pengujian diperoleh melalui kamera digital atau pemindai, kemudian intensitas piksel warna dianalisis menggunakan perangkat lunak pemrosesan gambar seperti ImageJ (Martinez dkk., 2019). Selain itu, fenomena fluoresensi juga telah dimanfaatkan dalam pengembangan perangkat

analitik berbasis kertas guna meningkatkan sensitivitas dan selektivitas deteksi, melebihi kemampuan metode kolorimetri konvensional. Sistem ini diterapkan dalam bidang penginderaan kimia dan biologis dengan mendeteksi emisi foton yang dihasilkan dari eksitasi elektron molekul akibat penyerapan energi cahaya (Musile dkk., 2023).

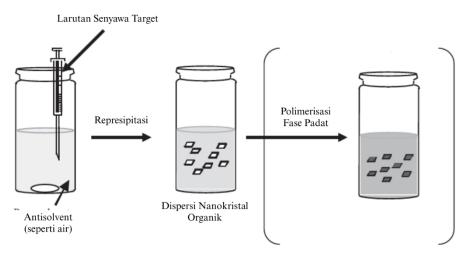
#### 2.2.2 Nanokristal Organik

Nanokristal organik merupakan partikel kristalin berukuran nanometer yang tersusun dari senyawa organik (Kasai dkk., 2018). Secara umum, nanokristal diklasifikasikan sebagai partikel berskala nano dengan ukuran kurang dari 1000 nm (Alnaim, 2024). Nanoteknologi kini telah banyak diterapkan dalam berbagai bidang, seperti elektronik, bioteknologi, dan kosmetik. Dalam perkembangan tersebut, nanokristal menjadi salah satu material penting karena sifatnya yang unik pada skala nano. Ukurannya yang sangat kecil memungkinkan interaksi molekuler yang lebih presisi serta efisiensi fungsi yang lebih tinggi dibandingkan material berukuran besar (Uwe dkk., 2008).

Terdapat berbagai metode yang dapat digunakan untuk menghasilkan nanokristal dengan bentuk dan ukuran yang diinginkan. Secara umum, terdapat tiga prinsip utama yang digunakan, yaitu metode penggilingan, presipitasi, dan homogenisasi, termasuk kombinasi di antaranya. Dalam praktik industri, metode yang paling banyak diterapkan adalah pendekatan top-down, yakni dengan memperkecil ukuran partikel dari bahan awal berupa serbuk berukuran besar. Sementara itu, pendekatan bottom-up yang melibatkan proses presipitasi dari larutan molekul belum digunakan secara luas dalam produksi skala komersial. Hal ini disebabkan oleh beberapa kendala, seperti perlunya proses penghilangan pelarut, tantangan dalam mengontrol parameter proses secara konsisten, serta keterbatasan kelarutan banyak senyawa obat dalam pelarut air maupun organik (Uwe dkk., 2008).

#### 2.2.3 Metode Represipitasi

Metode represipitasi merupakan salah satu teknik sintesis yang sederhana untuk menghasilkan kristal berukuran nano hingga mikro, terutama dari senyawa organik. Teknik ini dilakukan dengan cara menginjeksikan larutan senyawa target ke dalam *anti-solvent* seperti air yang tidak mampu melarutkan senyawa tersebut. Larutan tersebut umumnya menggunakan pelarut yang mudah bercampur dengan air, seperti alkohol, aseton, atau THF (Kasai dkk., 2018). Oleh karena itu, pemilihan pasangan pelarut dan anti-pelarut perlu dilakukan secara cermat, dengan mempertimbangkan sifat kimia senyawa atau biopolimer yang digunakan, agar proses pembentukan nanopartikel dapat berlangsung optimal (Joye & McClements, 2013). Ketika pencampuran berlangsung cepat, senyawa yang awalnya terlarut akan mengalami pengendapan dalam bentuk partikel halus. Keunggulan dari metode ini adalah kemudahannya, kecepatan proses, biaya rendah, serta kompatibilitas yang tinggi terhadap berbagai senyawa organik (Kasai dkk., 2018).



Gambar 2. 1 Skema Metode Represipitasi (diadaptasi dan dimodifikasi dari Kasai dkk., 2018)

Ukuran dan morfologi kristal yang dihasilkan melalui metode ini dapat dikontrol dengan mengatur beberapa parameter sintesis. Parameter tersebut meliputi kombinasi pelarut dan antisolven, konsentrasi larutan yang diinjeksi, suhu *anti-solvent*, serta intensitas pengadukan. Penyesuaian terhadap kondisi-kondisi ini memungkinkan proses pembentukan partikel berlangsung secara terkendali. Dengan demikian, kristal yang dihasilkan dapat memiliki ukuran dan bentuk yang seragam serta terdispersi secara stabil dalam *anti-solvent* setelah proses injeksi selesai. Setelah proses represipitasi selesai dan terbentuk dispersi nanokristal organik, tahap selanjutnya dapat melibatkan polimerisasi fase padat. Dalam tahap ini, partikel kristal yang terbentuk akan saling berinteraksi pada permukaannya. Interaksi ini memungkinkan molekulmolekulnya tersusun lebih rapat dan stabil, sehingga meningkatkan sifat fisik dan optik material (Kasai dkk., 2018).

#### 2.2.4 Senyawa 3-(2-benzotiazolil)-4-hidroksibenzena Sulfonat (BHB)

Senyawa 3-(2-benzotiazolil)-4-hidroksibenzena sulfonat (BHB) merupakan turunan dari senyawa fluoresen HBT yang dimodifikasi dengan gugus asam sulfonat (-SO<sub>3</sub>H). Modifikasi ini menghasilkan molekul dengan kemampuan unik untuk mengalami transfer proton intramolekul pada keadaan tereksitasi, dikenal sebagai mekanisme ESIPT (Excited-State Intramolecular Proton Transfer). Mekanisme ini memungkinkan BHB menghasilkan perubahan warna emisi fluoresens secara signifikan ketika berinteraksi dengan senyawa tertentu, terutama amina organik. Saat dalam bentuk kristal, BHB dapat merespons keberadaan uap amina seperti piridin, anilin, amonia, dan histamin dengan perubahan warna fluoresen dari biru lemah (non-ESIPT) menjadi hijau kuat (ESIPT), tergantung pada konformasi molekulnya. Struktur BHB terdiri dari tiga gugus utama yaitu cincin benzothiazol, gugus hidroksil (-OH) yang berada pada posisi orto terhadap gugus benzothiazol, serta gugus sulfonat (-SO<sub>3</sub>H) pada posisi para terhadap -OH. Perubahan ini disebabkan oleh transformasi struktur dari bentuk trans-zwitterion menjadi cis-konformasi yang membentuk ikatan hidrogen intramolekul stabil, mendukung terjadinya emisi ESIPT (Nakane dkk., 2018).

Gambar 2. 2 Struktur 3-(2-benzotiazolil)-4-hidroksibenzena Sulfonat (BHB) (diadaptasi dan dimodifikasi dari Nakane dkk., 2018)

BHB menunjukkan sifat kromisme fluoresen reversibel dalam keadaan padat, artinya warna emisi dapat kembali ke keadaan semula setelah penghilangan senyawa amina. Sifat ini menjadikan BHB sangat potensial untuk diterapkan dalam sensor kimia padat, khususnya untuk deteksi senyawa amina biogenik yang penting secara biologis. Selain itu, respons multicolor BHB yang dipengaruhi oleh konsentrasi analit, seperti amonia dan histamin, memungkinkan sensitivitas tinggi hingga level ppm dalam sistem pendeteksian berbasis lapisan material yang sangat tipis. Oleh karena itu, kemampuan BHB untuk merespons secara spesifik terhadap berbagai amina melalui perubahan warna fluoresen menjadikannya sangat relevan untuk diterapkan dalam sistem pengembangan sensor berbasis warna untuk aplikasi biomedis dan lingkungan (Nakane dkk., 2018).

#### 2.2.5 Amina Biogenik

Amina biogenik (BA) merupakan senyawa basa organik berbobot molekul rendah yang mengandung nitrogen (Tang dkk., 2024). Umumnya, senyawa ini terbentuk melalui proses dekarboksilasi asam amino oleh aktivitas mikroorganisme, baik secara enzimatik maupun termal (Mairal Lerga dkk., 2019). Selain itu, BA juga dapat terbentuk melalui aminasi reduktif dan transaminasi aldehida serta keton, atau bahkan sebagai hasil aktivitas jaringan tubuh. Amina biogenik memiliki peran penting dalam metabolisme seluler pada mikroorganisme, tumbuhan, dan hewan (Wójcik dkk., 2021). Beberapa di antaranya juga diproduksi secara alami dalam tubuh manusia sebagai bagian dari proses fisiologis, termasuk sebagai prekursor neurotransmiter dan regulator metabolik (Tang dkk., 2024).

BA ditemukan luas dalam berbagai jenis makanan, terutama produk yang kaya protein seperti daging, ikan, produk olahan susu, serta makanan yang mengalami proses fermentasi seperti keju, bir, anggur, kecap, dan saus ikan. Selain itu, sayuran, buah-buahan, cokelat, dan telur juga mengandung BA. Satu-satunya amina yang secara alami terdapat dalam makanan adalah spermina dan spermidina, sementara yang lainnya terakumulasi karena aktivitas mikroorganisme. Oleh karena itu, kandungan BA sering digunakan sebagai penanda kualitas higienis dan kesegaran makanan, sekaligus sebagai indikator tingkat kontaminasi mikrobiologis (Wójcik dkk., 2021).

Pembentukan amina biogenik dipengaruhi oleh tiga kelompok faktor utama. Pertama, faktor yang berkaitan dengan bahan baku seperti pH, komposisi kimia, ketersediaan protein, dan asam amino bebas. Kedua, kondisi penyimpanan dan pemrosesan produk seperti metode fermentasi, tingkat kematangan, suhu, lama penyimpanan, kondisi sanitasi, serta jenis dan metode pengemasan. Ketiga, faktor kontaminasi mikrobiologis, khususnya keberadaan mikroorganisme yang memiliki aktivitas dekarboksilase. Sanitasi yang buruk, suhu tinggi, dan peningkatan pH mempercepat pertumbuhan mikroba penghasil BA, sehingga meningkatkan akumulasi senyawa ini dalam produk pangan (Wójcik dkk., 2021).

Dalam sistem biologis manusia, BA memiliki peran fisiologis penting. Beberapa BA berfungsi sebagai neurotransmiter, termasuk serotonin, melatonin, dopamin, dan histamin.

Amina-amina ini dikenal sebagai amina endogen karena diproduksi oleh jaringan tubuh. Namun, konsumsi BA dari luar (amina eksogen) dalam jumlah berlebihan dapat menyebabkan gangguan fisiologis dan neurologis (Wójcik dkk., 2021). BA telah dikaitkan dengan gangguan sistem saraf pusat, termasuk penyakit Alzheimer, karena dapat memengaruhi kadar neurotransmiter dan mengganggu transmisi sinyal neurologis. Histamin merupakan salah satu amina biogenik yang berperan dalam berbagai proses fisiologis, termasuk sekresi asam lambung, regulasi pertumbuhan dan diferensiasi sel, serta aktivitas neurotransmisi dan neuromodulasi dalam sistem saraf (Mairal Lerga dkk., 2019). Akumulasi BA di jaringan tubuh juga dapat menimbulkan risiko toksik jangka panjang yang serius terhadap kesehatan (Wójcik dkk., 2021).

Kandungan BA dalam makanan juga dapat digunakan sebagai parameter kuantitatif dalam bentuk indeks amina biogenik (Biogenic Amine Index, BAI). Indeks ini sering digunakan untuk menilai kualitas mikrobiologis dan status higienis produk pangan. Jumlah dan jenis BA dalam sampel makanan dapat menjadi indikator seberapa jauh produk tersebut mengalami degradasi atau kontaminasi mikroba. Oleh karena itu, pemantauan kadar BA memiliki nilai penting dalam pengendalian mutu dan keamanan pangan (Wójcik dkk., 2021).

Untuk mendeteksi BA, berbagai metode telah dikembangkan, baik untuk keperluan laboratorium maupun aplikasi lapangan secara nyata. Teknik konvensional meliputi kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC), kromatografi gas (GC), dan kromatografi gasspektrometri massa (GC-MS). Selain itu, pendekatan berbasis sensor seperti array kolorimetri, sistem elektrokimia, spektrometri mobilitas ion, serta keseimbangan kristal mikro kuarsa juga telah dikembangkan. Berbagai metode ini bertujuan untuk menghasilkan deteksi BA yang cepat, sensitif, dan akurat dalam konteks evaluasi mutu pangan maupun aplikasi medis (Li dkk., 2023).

#### 2.2.6 Triptamin

Triptamin merupakan amina biogenik yang terbentuk melalui dekarboksilasi asam amino triptofan oleh aktivitas mikroorganisme (Prado dkk., 2023). Senyawa ini tergolong alkaloid monoamina dengan kerangka cincin indol, yang berfungsi sebagai inti struktural dalam berbagai senyawa bioaktif alami, serta menjadi dasar bagi pengembangan beragam obat sintetik dan semi-sintetik yang memiliki aktivitas farmakologis (Kousara dkk., 2017). Triptamin merupakan senyawa neuroaktif yang berperan sebagai agen pelepas serotonin (serotonine-releasing agent, SRA) dalam sistem saraf pusat. Di saluran pencernaan, triptamin yang diperoleh baik dari asupan makanan maupun hasil metabolisme mikrobiota usus juga berfungsi sebagai SRA. Perannya mencakup pengaturan motilitas usus, aliran darah, sekresi saluran cerna, serta transmisi sinyal ke otak melalui aktivasi neuron enterik. Mengingat peran SRA yang telah dikaitkan dengan efek antidepresan dan ansiolitik, pemberian bakteri asam laktat (lactic acid bacteria, LAB) penghasil triptamin secara oral sebagai bentuk psikobiotik menjadi pendekatan yang menjanjikan. LAB tersebut diharapkan mampu berkolonisasi di usus dan membantu mempertahankan kadar triptamin yang cenderung cepat berkurang (Arranz dkk., 2025).

$$\beta$$
 $\alpha$ 
 $NH_2$ 

Gambar 2. 3 Struktur Triptamin (Tittarelli dkk., 2015)

Triptamin merupakan golongan alkaloid monoamina yang tersusun dari inti cincin indol, yaitu gabungan antara cincin benzena dan cincin pirrol, yang dihubungkan ke gugus amina melalui rantai samping dua karbon (Tittarelli dkk., 2015). Triptamin termasuk dalam golongan amina biogenik yang cenderung terakumulasi dalam kadar tinggi pada berbagai jenis makanan dan sering dimanfaatkan sebagai indikator dalam evaluasi keamanan pangan. Saat ini, beragam metode kromatografi seperti kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC), kromatografi gas (GC), dan elektroforesis kapiler (CE), umumnya digunakan bersama dengan teknik spektrometri optik atau spektrometri massa (MS) untuk mendeteksi serta menganalisis amina biogenik. Namun, amina biogenik biasanya terdapat dalam jumlah kecil pada makanan berprotein tinggi dan produk fermentasi yang mengandung banyak senyawa pengganggu seperti protein, peptida, dan asam amino. Keberadaan senyawa-senyawa ini dapat mengganggu akurasi deteksi, sehingga meningkatkan kesulitan dalam analisisnya (Tang dkk., 2024). Pada matriks biologis, beberapa pendekatan lanjutan telah diterapkan untuk meningkatkan sensitivitas dan selektivitas analisis triptamin, antara lain kromatografi cair fase terbalik (RP-HPLC) dan kromatografi interaksi hidrofilik (HILIC). Kedua teknik ini biasanya dipasangkan dengan detektor UV atau diodearray detector (DAD) dan sering digabungkan dengan spektrometri massa (LC-MS) guna memperoleh batas deteksi yang lebih rendah serta identifikasi yang lebih andal (Yasmo Perez dkk., 2025).

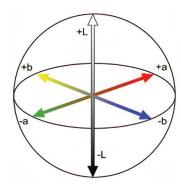
#### **2.2.7 ImageJ**

ImageJ merupakan perangkat lunak open-source yang sangat luas digunakan dalam berbagai bidang ilmu, terutama di bidang biologi sel, mikroskopi, dan biomedis. Perangkat lunak ini memungkinkan pengguna untuk melakukan berbagai aktivitas seperti visualisasi, anotasi, pengolahan, dan analisis kuantitatif gambar ilmiah, baik dua dimensi maupun multidimensi. Salah satu alasan utama popularitas ImageJ adalah karena sifatnya yang fleksibel dan dapat diperluas dengan plugin serta skrip yang dapat disesuaikan (Schroeder dkk., 2021).

Pada tahun 1980, Wayne Rasband, seorang programmer di National Institutes of Health (NIH), mengembangkan perangkat lunak analisis gambar untuk komputer Macintosh bernama NIH Image. Kebutuhan akan perangkat lunak ini muncul karena pada saat itu belum tersedia alat analisis citra ilmiah yang sederhana, murah, dan dapat dioperasikan di komputer pribadi. Berbekal pengalaman di bidang pemrograman dan pengolahan data, Rasband menciptakan NIH Image untuk mempermudah para ilmuwan dalam menganalisis gambar tanpa perlu peralatan mahal. Seiring berkembangnya teknologi dan meningkatnya penggunaan sistem operasi lain seperti Windows, serta munculnya bahasa pemrograman Java, Rasband memutuskan untuk mengembangkan ulang perangkat NIH Image menjadi ImageJ. Nama "ImageJ" dipilih untuk menunjukkan transisi ke platform Java, yang memungkinkan perangkat lunak ini berjalan di berbagai sistem operasi (cross-platform). Pengembangan ImageJ didorong bukan oleh rencana dari NIH, melainkan oleh kebutuhan nyata di lapangan dan kolaborasi dengan komunitas

pengguna, dengan tujuan menjadikannya alat analisis gambar yang kuat, fleksibel, dan dapat diperluas melalui plugin dan makro buatan pengguna (Schneider dkk., 2012).

Dalam praktiknya, ImageJ digunakan oleh berbagai kalangan, mulai dari peneliti biologi dan non-biologi, hingga pengguna non-programmer dan lanjutan. Peneliti biologi menggunakan imageJ untuk analisis fluoresensi, pelacakan sel, segmentasi jaringan, penghitungan partikel, dan visualisasi perkembangan organisme secara 3D dari data mikroskopi beresolusi tinggi. Pengguna non-biologis seperti ahli geologi, astronom, hingga sejarawan seni, juga memanfaatkannya untuk menganalisis struktur batuan, citra langit, hingga memetakan kerusakan pada patung abad pertengahan. Untuk kalangan non-programmer, ImageJ menyediakan fitur Macro Recorder untuk mencatat langkah manual menjadi kode otomatis, sementara pengguna lanjutan dapat menulis skrip kompleks dalam berbagai bahasa seperti JavaScript, Python, atau Groovy (Schroeder dkk., 2021).



Gambar 2. 4 Standar CIELAB Color Space (Liu & Jiang, 2024)

Untuk mendukung proses analisis warna secara objektif, ImageJ memungkinkan konversi warna dari model RGB (Red, Green, Blue) ke berbagai ruang warna lainnya, salah satunya adalah CIELAB. Ruang warna ini digunakan secara luas dalam analisis ilmiah karena representasinya yang mendekati persepsi visual manusia. Model warna CIELAB dikembangkan oleh The International Commission of Illumination (CIE) pada tahun 1976 dan menjadi salah satu sistem warna standar klasik dalam aplikasi digital. CIELAB merepresentasikan warna dalam koordinat tiga dimensi, yakni L\*, a\*, dan b\*. Komponen L\* menunjukkan tingkat kecerahan (*lightness*) dengan nilai yang berada pada rentang 0 (hitam) hingga 100 (putih). Nilai a\* menggambarkan sumbu warna antara merah (positif) dan hijau (negatif), dengan nilai a\* = 100 mengarah ke merah dan a\* = -80 mengarah ke hijau. Sedangkan nilai b\* menunjukkan gradasi antara kuning (positif) dan biru (negatif), di mana b\* = 100 mendekati kuning dan b\* = -80 mendekati biru (Liu & Jiang, 2024).

#### 2.2.8 Particle Size Analyzer (PSA)

Particle Size Analyzer (PSA) merupakan salah satu alat yang paling banyak digunakan untuk mengukur distribusi ukuran partikel, baik dalam dunia industri maupun penelitian. Alat ini mampu mengukur partikel dari skala nanometer hingga milimeter, menjadikannya sangat fleksibel dalam berbagai aplikasi (Hussain dkk., 2020). Ukuran partikel sendiri memiliki pengaruh besar terhadap sifat fisik dan kinerja material, baik dalam bentuk bubuk, suspensi, emulsi, maupun aerosol. Misalnya, partikel berukuran kecil cenderung larut lebih cepat dan meningkatkan viskositas suatu larutan, sedangkan partikel berukuran besar lebih mudah mengalir dan cenderung mengendap. Dalam berbagai industri seperti farmasi, kosmetik, makanan, cat, semen, hingga polimer, ukuran partikel dapat menentukan stabilitas produk, efektivitas penyerapan, tekstur, kekuatan mekanik, hingga tampilan visual seperti kilap permukaan (HORIBA, 2022).

Seiring berkembangnya teknologi, berbagai metode PSA dikembangkan berdasarkan prinsip fisika yang berbeda-beda. Salah satu metode yang umum digunakan adalah Laser Diffraction (LD), yang menganalisis pola difraksi cahaya untuk menentukan ukuran partikel. Teknik ini sesuai untuk partikel dengan ukuran mulai dari 100 nm hingga beberapa milimeter, dan hasilnya biasanya disajikan dalam distribusi volume seperti D10, D50, dan D90. Selain itu, terdapat metode Dynamic Light Scattering (DLS) yang mengukur fluktuasi intensitas cahaya akibat gerakan acak partikel berukuran nano dalam larutan. DLS memberikan informasi ukuran berupa nilai rata-rata (Z-average) dan indeks polidispersitas (PDI), serta sangat cocok untuk karakterisasi nanopartikel (HORIBA, 2022).

# BAB III METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Metode yang Digunakan

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah represipitasi untuk sintesis nanokristal BHB, kemudian dikarakterisasi menggunakan PSA untuk mengetahui distribusi ukuran partikelnya. Lalu nanokristal organik BHB tersebut diimobilisasikan pada area uji μPAD dan diuji terhadap triptamin serta berbagai amina biogenik lainnya. Perubahan warna yang terjadi dianalisis secara kuantitatif menggunakan perangkat lunak ImageJ, dengan mengukur intensitas warna pada area uji untuk mengevaluasi perbedaan respons antar senyawa dan konsentrasi. Validasi metode dilakukan melalui uji selektivitas terhadap berbagai amina biogenic dan penerapan pada sampel nyata berupa kecap asin.

#### 3.2 Bahan dan Peralatan yang Digunakan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini yaitu printer laser, oven (Thermo Scientific), super-absorbent pads, kertas saring (filter paper) Whatman Grade 93, kertas timbang, gunting, micro syringe (Hamilton), mini stirrer (Pasorina), magnetic stirrer, mikropipet (Eppendorf), microtip (Onemed), microtube, neraca analitik (AS One), spatula, botol vial, peralatan gelas, smartphone (Iphone XR), light box (PULUZ), handy UV Lamp (AS One), stabilizer, dan PSA (Malvern Panalytical).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu aseton extra pure 99% (SAP Chemicals), akuades (non-merk, lokal), 3-(2-benzotiazolil)-4-hidroksi-benzenesulfonat (BHB) disintesis di Akutagawa Laboratory, Institute of Multidisciplinary Research for Advance Materials, Tohoku University, dimetil sulfoksida (DMSO) analytical grade 99%, asam etilendiamintetraasetat (EDTA) p.a (Merck), triptamin p.a 97% (Combi-Blocks), L-triptofan p.a 99%, L-arginin Wako Special Grade 98%, L-serin p.a 99%, asam L-glutamat p.a 99% (FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation), L-lisin 98%, L-sistein grade for analysis 97% (Sigma-Aldrich), urea grade for analysis (Arkitos), dan kecap asin khas Jepang (Kikkoman Shoyu).

#### 3.3 Urutan Pelaksanaan Penelitian

#### 3.3.1 Pembuatan µPAD

Pola Microfluidic Paper-Based Analytical Device (μPAD) dicetak pada kertas saring (filter paper) Whatman Grade 93 menggunakan printer laser. Setiap satuan μPAD terdiri atas 8 kolom dan 3 baris area uji berbentuk lingkaran dengan diameter masing-masing 0,5 cm yang disusun berulang dalam satu lembar kertas. Dalam satu lembar, dicetak sebanyak 16 satuan μPAD secara berurutan dan simetris. Setiap teknik pencetakan pola pada kertas bertujuan untuk membentuk penghalang hidrofobik yang jelas dan teratur. Penghalang ini berfungsi untuk mengarahkan aliran cairan dengan membatasi area tertentu sebagai saluran dan zona uji yang bersifat hidrofilik (Nishat dkk., 2021). Setelah proses pencetakan, lembaran kertas dipanaskan dalam oven pada suhu 165°C selama 1 jam untuk meleburkan partikel toner hasil cetakan laser sehingga membentuk penghalang hidrofobik pada area yang telah dicetak. Pemanasan ini menyebabkan toner meresap ke dalam serat kertas, membatasi area alir cairan secara mikrofluida. Selanjutnya, lembar μPAD yang telah dipanaskan kemudian dipotong per satuan menggunakan gunting sehingga setiap unit μPAD siap digunakan dalam tahap imobilisasi dan analisis berikutnya.

#### 3.3.2 Preparasi dan Karakterisasi Nanokristal BHB

Nanokristal organik BHB disiapkan menggunakan metode represipitasi dengan cara menginjeksikan larutan BHB ke dalam akuades sebagai *anti-solvent*. Larutan BHB 10 mM terlebih dahulu disiapkan dengan melarutkan 2 mg BHB ke dalam 300 µL DMSO dalam *microtube*. Selanjutnya, sebanyak 100 µL larutan BHB diinjeksikan secara perlahan ke dalam 10 mL akuades menggunakan *micro syringe* sambil diaduk dengan kecepatan tinggi menggunakan magnetic stirrer. Setelah injeksi, pengadukan dihentikan dan larutan dispersi nanokristal BHB dibiarkan dalam keadaan diam selama 1 jam agar kristal yang terbentuk mencapai kestabilan ukuran partikel. Dispersi nanokristal BHB yang telah terbentuk kemudian dikarakterisasi menggunakan PSA untuk menentukan distribusi ukuran partikel.

#### 3.3.3 Imobilisasi Nanokristal BHB pada µPAD

Perangkat μPAD disiapkan dan diletakkan di atas bantalan penyerap superabsorben (super-absorbent pads) yang berfungsi untuk menyerap kelebihan larutan yang keluar dari area uji μPAD selama proses imobilisasi. Sebanyak 300 μL larutan dispersi nanokristal BHB diimobilisasikan ke masing-masing area uji μPAD menggunakan mikropipet secara hati-hati agar distribusi merata dan tidak terjadi kontaminasi antar area. Setelah diimobilisasi, μPAD dibiarkan mengering pada suhu ruang selama ±10–15 menit atau hingga larutan benar-benar terserap dan kering sempurna. Setelah kering, dilakukan dokumentasi untuk kondisi visual awal area uji yang telah terimobilisasi nanokristal BHB sebelum interaksi dengan sampel. Pengambilan citra dilakukan di dalam lightbox dengan pencahayaan yang diatur menggunakan lampu ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. Sebelum lampu dinyalakan, stabilizer listrik dipasang terlebih dahulu untuk memastikan tegangan tetap stabil dan aman bagi perangkat pencahayaan. μPAD kemudian diletakkan di dalam lightbox dan gambar diambil menggunakan kamera smartphone.

#### 3.3.4 Pembuatan Larutan Triptamin Konsentrasi Bertingkat

Larutan triptamin dengan konsentrasi 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1,0 mM disiapkan melalui metode pengenceran bertingkat dari larutan stok 1,0 mM. Larutan stok 1,0 mM dibuat dengan melarutkan 1,6 mg triptamin (berat molekul 160,22 g/mol) ke dalam akuades hingga mencapai volume akhir 10 mL. Selanjutnya, larutan stok tersebut diencerkan secara bertingkat menggunakan akuades untuk memperoleh larutan kerja dengan konsentrasi lebih rendah, dengan volume akhir masing-masing tetap 10 mL. Rincian perhitungan pengenceran disajikan pada Lampiran C.2.

#### 3.3.5 Respons Warna µPAD Terimobilisasi BHB terhadap Triptamin

Setelah proses imobilisasi BHB pada µPAD selesai dilakukan, tahap selanjutnya adalah pengujian kemampuan sistem ini dalam mendeteksi triptamin. Pada tahap ini, larutan triptamin diaplikasikan pada area uji yang telah mengandung BHB teramobilisasi untuk mengamati perubahan respon warna atau fluoresensi yang muncul akibat interaksi antara BHB dan triptamin. Masing-masing larutan uji berupa blanko (akuades) dan larutan triptamin dengan konsentrasi bertingkat yaitu 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1 mM diimobilisasikan sebanyak 50 µL secara berurutan dari kiri ke kanan pada area uji µPAD. Uji dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan, sehingga setiap konsentrasi dan kontrol blanko menempati satu baris area uji (total tiga baris) pada satu perangkat µPAD. Setelah proses penambahan larutan, kertas µPAD dikeringkan kembali pada suhu ruang hingga larutan benar-benar terserap dan kering sempurna. Kemudian didokumentasi ulang dalam lightbox yang dilakukan di dalam ruang gelap dengan pencahayaan menggunakan lampu ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. Dokumentasi ini bertujuan untuk mengamati dan mengevaluasi perubahan warna atau

fluoresensi yang muncul sebagai hasil interaksi antara nanokristal BHB dengan senyawa triptamin.

#### 3.3.6 Pembuatan Larutan Amina Biogenik

Amina biogenik yang digunakan dalam penelitian ini meliputi triptamin, triptofan, lisin, serin, asam glutamat, urea, sistein, dan arginin. Masing-masing disiapkan dalam konsentrasi akhir sebesar 2 mM dengan melarutkan massa senyawa yang telah dihitung ke dalam akuades hingga volume akhir 10 mL. Perhitungan massa didasarkan pada berat molekul masing-masing senyawa dan disajikan secara lengkap pada Lampiran C.3.

#### 3.3.7 Uji Selektivitas BHB terhadap Amina Biogenik

Perangkat  $\mu$ PAD disiapkan dan diletakkan di atas bantalan penyerap superabsorben yang berfungsi menyerap kelebihan larutan selama proses imobilisasi. Sebanyak 300  $\mu$ L larutan dispersi nanokristal BHB diimobilisasikan secara hati-hati ke setiap area uji menggunakan mikropipet agar distribusi merata. Kertas  $\mu$ PAD kemudian dikeringkan pada suhu ruang selama  $\pm 10$ –15 menit atau hingga larutan benar-benar terserap dan mengering sempurna. Setelah kering,  $\mu$ PAD didokumentasikan secara visual menggunakan kamera smartphone di dalam light box dalam kondisi ruang gelap. Pencitraan dilakukan dengan penyinaran lampu ultraviolet pada dua panjang gelombang, yaitu 254 nm dan 365 nm, untuk mendokumentasikan karakteristik visual awal area uji sebelum penambahan sampel.

Selanjutnya, sebanyak 50 µL larutan dari masing-masing BA diteteskan ke area uji secara sistematis. Penempatan larutan dilakukan dalam dua baris, yaitu baris pertama (dari kiri ke kanan): blanko (akuades), triptamin, triptofan, lisin, dan serin, serta baris kedua (dari kiri ke kanan): blanko (akuades), asam glutamat, urea, sistein, dan arginin. Setelah penambahan BA, µPAD dikeringkan kembali hingga larutan benar-benar terserap dan kering sempurna. Kemudian dilakukan dokumentasi ulang di dalam lightbox dengan pengaturan cahaya dan posisi yang sama seperti sebelumnya. Dokumentasi ini bertujuan untuk mengevaluasi adanya perubahan warna atau fluoresensi sebagai hasil interaksi antara masing-masing BA dengan nanokristal BHB, sehingga dapat dinilai selektivitas BHB terhadap senyawa-senyawa uji yang digunakan.

#### 3.3.8 Demonstrasi pada Sampel Nyata

Untuk mengevaluasi penerapan strategi yang dikembangkan dalam konteks dunia nyata, dilakukan demonstrasi menggunakan sampel berupa kecap asin khas Jepang (Kikkoman Shoyu). Produk fermentasi kedelai seperti shoyu diketahui mengandung berbagai jenis amina biogenik, termasuk triptamin, histamin, dan tiramin. Kandungan ini dihasilkan melalui aktivitas mikroorganisme selama proses fermentasi yang berlangsung (Li dkk., 2019). Keberadaan amina biogenik tersebut menjadikan produk seperti kecap asin relevan untuk dianalisis dalam studi keamanan pangan dan pengembangan metode deteksi.

Preparasi sampel dilakukan dengan cara mengencerkan sampel masing-masing sebanyak 10 kali, 100 kali, dan 1000 kali menggunakan larutan EDTA 0,01 M pH 8. Larutan EDTA 0,01 M diperoleh dengan cara mengencerkan larutan stok EDTA 0,1 M sebanyak 10 kali menggunakan akuades. Larutan stok EDTA 0,1 M dibuat dengan melarutkan 3,72 gram EDTA ke dalam akuades hingga mencapai volume 100 mL menggunakan labu ukur. Pengenceran 10 kali dilakukan dengan mencampurkan 100  $\mu$ L sampel dengan 900  $\mu$ L pelarut. Untuk pengenceran 100 kali, sebanyak 10  $\mu$ L sampel dicampurkan dengan 990  $\mu$ L pelarut. Sementara itu, pengenceran 1000 kali dilakukan dengan mencampurkan 1  $\mu$ L sampel dengan 999  $\mu$ L pelarut.

Sampel kecap asin yang digunakan berasal dari hari ke-0, hari ke-3, dan hari ke-7 penyimpanan. Setelah dibuka, sampel dipindahkan ke vial tertutup dan disimpan pada suhu ruang, untuk merepresentasikan variasi waktu penyimpanan setelah pembukaan. Setelah sampel kecap asin dengan berbagai tingkat pengenceran disiapkan, langkah selanjutnya adalah aplikasinya pada sistem deteksi berbasis μPAD yang telah dimodifikasi dengan nanokristal BHB. Proses dimulai dengan imobilisasi larutan dispersi nanokristal BHB sebanyak 300 μL ke setiap area uji menggunakan mikropipet, kemudian dikeringkan pada suhu ruang selama ±10–15 menit. Dokumentasi visual awal dilakukan menggunakan kamera smartphone di dalam light box dengan pencahayaan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dalam kondisi ruang gelap, untuk mendapatkan tampilan area uji sebelum penambahan sampel. Masing-masing larutan uji, yaitu akuades, larutan EDTA 0,01 M, serta sampel kecap asin dengan pengenceran bertingkat (10×, 100×, dan 1000×), diimobilisasikan sebanyak 50 μL secara berurutan dari kiri ke kanan pada area uji μPAD. Baris pertama digunakan untuk sampel hari ke-0, baris kedua untuk hari ke-3, dan baris ketiga untuk hari ke-7.

Setelah penambahan larutan uji, µPAD dikeringkan kembali hingga larutan terserap sempurna. Kemudian dilakukan dokumentasi ulang di dalam lightbox dengan pengaturan cahaya dan posisi yang sama seperti sebelumnya. Dokumentasi ini bertujuan untuk mengevaluasi perubahan warna atau fluoresensi yang terjadi akibat interaksi antara triptamin yang mungkin terkandung dalam sampel dan nanokristal BHB, sehingga dapat dianalisis kinerja dan selektivitas sensor dalam mendeteksi triptamin pada sampel nyata.

#### 3.3.8 Analisis dengan ImageJ

Setelah setiap tahap eksperimen selesai, gambar  $\mu$ PAD yang dihasilkan dianalisis secara kuantitatif menggunakan perangkat lunak ImageJ. Prosedur analisis citra ini diterapkan secara konsisten untuk tiga konteks utama dalam penelitian yaitu mengevaluasi perubahan warna sebelum dan sesudah penambahan triptamin sebagai analit utama, membandingkan respons warna terhadap berbagai jenis amina biogenik dalam uji selektivitas, dan menganalisis sampel nyata berupa kecap asin yang mengandung amina biogenik. Dengan menggunakan metode analisis yang sama pada ketiga tahap tersebut, diperoleh data intensitas warna atas perbedaan respons yang dihasilkan oleh  $\mu$ PAD terhadap berbagai kondisi dan jenis senyawa.

Analisis visual μPAD sebelum dan sesudah penambahan triptamin dilakukan menggunakan perangkat lunak ImageJ, dengan tujuan untuk mengukur perubahan warna sebagai respons terhadap interaksi antara nanokristal BHB dan triptamin. Langkah pertama dimulai dengan membuka aplikasi ImageJ, kemudian memilih menu File > Open untuk membuka file gambar μPAD yang akan dianalisis. Setelah gambar terbuka, konversi warna dilakukan dengan memilih Plugins > Jars > Color Space Converter, kemudian memilih opsi Convert RGB to LAB, lalu menekan tombol Separate Images. Langkah ini akan menghasilkan tiga tab citra terpisah, yaitu L\*, a\*, dan b\* sesuai dengan ruang warna CIELAB (Sharma dkk., 2005). Pemilihan ruang warna CIELAB dilakukan karena sistem ini mampu merepresentasikan persepsi warna manusia secara lebih akurat dan memiliki kecepatan pemrosesan tinggi, setara dengan model RGB (Liu & Jiang, 2024).

Analisis dilanjutkan dengan mengevaluasi ketiga ruang warna CIELAB, yaitu L\* (*lightness*), a\* (hijau–merah), dan b\* (biru–kuning), karena masing-masing komponen warna dapat memberikan informasi spesifik mengenai perubahan warna pada area deteksi. Setelah konversi RGB ke LAB dilakukan dan menghasilkan tiga citra terpisah, setiap komponen warna dianalisis secara terpisah. Alat Oval Selection Brush digunakan untuk menyesuaikan bentuk area analisis dengan pola titik uji pada µPAD. Setelah area uji dipilih, tombol *Measure* ditekan untuk merekam nilai intensitas pada komponen warna sedang dianalisis. Prosedur ini diulangi

untuk komponen warna L\*, a\*, dan b\* secara berurutan pada setiap titik uji untuk memperoleh data kuantitatif komprehensif yang dapat dibandingkan antar kondisi.

Data hasil pengukuran berupa nilai rata-rata (*mean*) intensitas warna pada masing-masing komponen. Nilai tersebut digunakan untuk menghitung perubahan warna menggunakan rumus:

$$\Delta L = L_1^* - L_0^* \tag{3.1}$$

$$\Delta a = a^*_1 - a^*_0 \tag{3.2}$$

$$\Delta b = b^*_1 - b^*_0 \tag{3.3}$$

Selanjutnya, total perubahan warna dihitung sebagai nilai  $\Delta E$  menggunakan rumus:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \tag{3.4}$$

dengan keterangan subskrip 0 menunjukkan nilai sebelum penambahan sampel uji, sedangkan subskrip 1 menunjukkan nilai sesudah penambahan sampel uji. Nilai  $\Delta E$  merupakan total perubahan warna secara keseluruhan. Perhitungan ini memberikan representasi kuantitatif dari perubahan warna yang terjadi akibat interaksi antara senyawa uji dan nanokristal BHB pada  $\mu PAD$ . Data perubahan warna dianalisis secara regresi linier untuk mengevaluasi hubungan antara konsentrasi senyawa uji dan respons warna.

Hasil regresi ini selanjutnya digunakan untuk menghitung *Limit of Detection* (LOD) sebagai indikator sensitivitas sistem deteksi berbasis μPAD. Nilai LOD dihitung untuk mengidentifikasi konsentrasi minimum analit dalam sampel yang masih dapat terdeteksi oleh sistem (Shrivastava & Gupta, 2011). Perhitungan LOD dilakukan menggunakan rumus:

$$LOD = \frac{3.3 \times \sigma}{S} \tag{3.5}$$

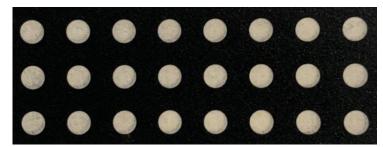
dimana  $\sigma$  adalah simpangan baku residual, sedangkan S merupakan kemiringan (slope) kurva kalibrasi (Fazekas dkk., 2025). Nilai LOD ini mencerminkan tingkat sensitivitas dari sensor  $\mu$ PAD, yaitu sejauh mana perangkat mampu mendeteksi keberadaan senyawa uji dalam konsentrasi yang sangat rendah secara kuantitatif dan *reproducible*.

# BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil Cetak µPAD

μPAD yang dicetak pada kertas saring berhasil terbentuk sesuai dengan pola area uji yang simetris dan jelas. Kertas Whatman yang digunakan hanya terdiri dari serat selulosa yang memiliki jaringan pori kapiler mikro-nano dan bersifat hidrofilik secara alami. Selulosa mengandung gugus hidroksil yang memungkinkan pembentukan ikatan hidrogen dengan molekul air. Sifat ini mendukung penyerapan dan distribusi larutan secara efisien melalui gaya kapiler dalam struktur kertas (Zhao dkk., 2021).

Pola pada μPAD dicetak menggunakan printer laser, kemudian kertas dipanaskan hingga toner yang mengandung resin styrene-akrilat melebur dan meresap ke dalam serat kertas. Pada suhu 100–150°C, resin mulai melunak dan pemanasan lebih lanjut hingga 165–200°C menyebabkan resin meleleh dan menyumbat pori-pori kapiler, membentuk barrier hidrofobik permanen. Setelah pendinginan, area cetak tersebut menjadi tidak permeabel terhadap air, menghasilkan kontras yang jelas antara bagian hidrofobik (area cetak) dan hidrofilik (area kertas kosong) yang berfungsi sebagai saluran dan area uji (Ghosh dkk., 2019).



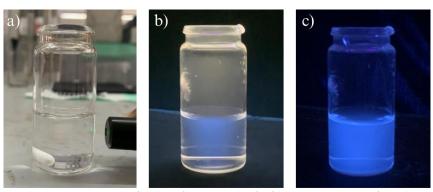
Gambar 4. 1 Hasil µPAD

Gambar 4.1 menunjukkan hasil pencetakan μPAD pada kertas saring Whatman yang telah membentuk 24 area uji berbentuk bulat yang tersusun secara simetris dalam tiga baris dan delapan kolom. Area putih yang tampak merupakan bagian hidrofilik yang tidak tertutup toner, berfungsi sebagai area uji tempat penetesan larutan dilakukan. Masing-masing area uji memiliki diameter 0,5 cm. Sementara itu, latar hitam merupakan area hidrofobik hasil penyerapan toner yang telah dipanaskan, yang berfungsi sebagai pembatas aliran cairan untuk mencegah penyebaran larutan ke luar area yang diinginkan. Kontras warna yang tegas antara area putih dan hitam menunjukkan keberhasilan proses fabrikasi μPAD dengan batas antarzona yang jelas dan terdefinisi baik.

#### 4.2 Hasil Preparasi dan Karakterisasi Nanokristal BHB

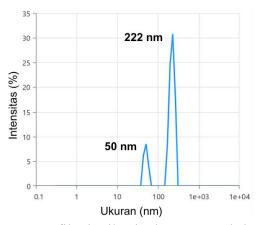
Nanokristal BHB berhasil dipreparasi menggunakan metode represipitasi, di mana senyawa BHB terlebih dahulu dilarutkan dalam pelarut organik polar DMSO, kemudian diinjeksikan ke dalam non-pelarut (anti-solvent) berupa akuades di bawah pengadukan kecepatan tinggi. Proses ini menghasilkan dispersi homogen yang mengandung partikel kristal BHB berukuran nano. Larutan BHB yang terbentuk ditunjukkan pada Gambar 4.2 a) tampak tidak berwarna ketika diamati pada kondisi pencahayaan normal. Namun, pada gambar b) dan c), larutan menunjukkan emisi biru saat disinari dengan UV 254 nm dan 365 nm secara berurutan. Hal ini disebabkan oleh bentuk trans-zwitterionik dari molekul BHB yang tidak menyerap cahaya pada rentang panjang gelombang tampak. Ketika dieksitasi dengan sinar UV 254 nm, larutan BHB menghasilkan emisi berwarna biru muda dengan intensitas rendah. Sebaliknya, pada eksitasi 365 nm, emisi yang dihasilkan tampak berwarna biru dengan rona

lebih pekat dan intensitas yang lebih tinggi. Emisi biru ini berkaitan dengan konformasi transzwitterionik molekul BHB, yang tidak menunjukkan serapan signifikan pada rentang cahaya tampak. Variasi ini menunjukkan bahwa sifat fotoluminesen BHB sangat dipengaruhi oleh struktur molekul dan panjang gelombang eksitasi (Nakane dkk., 2018).



Gambar 4. 2 Larutan BHB pada a) cahaya tampak, b) UV 254 nm, dan c) UV 365 nm

Fenomena ini dapat dijelaskan melalui mekanisme *Excited-State Intramolecular Proton Transfer (ESIPT)*, dimana terjadi perpindahan proton dari gugus –OH ke atom nitrogen dalam keadaan tereksitasi. Proses ini hanya berlangsung apabila molekul memperoleh energi eksitasi yang cukup dari sinar UV. Akibatnya, BHB memancarkan cahaya pada panjang gelombang 382–460 nm yang tampak sebagai warna biru. Sebaliknya, dalam kondisi pencahayaan biasa, energi yang tersedia tidak cukup untuk mengaktifkan mekanisme eksitasi, sehingga proses emisi tidak berlangsung dan larutan tidak menampilkan warna fluoresen secara kasat mata (Nakane dkk., 2018).



Gambar 4. 3 Profil Distribusi Ukuran Nanokristal BHB

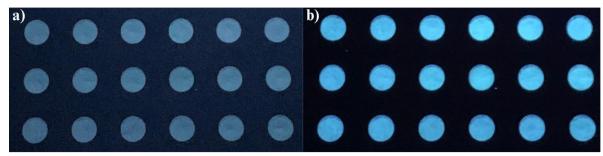
Distribusi ukuran partikel senyawa BHB dianalisis menggunakan PSA (Malvern ZS XPLORER) dan hasilnya ditampilkan pada Gambar 4.3. Grafik menunjukkan kurva distribusi berdasarkan intensitas cahaya terhambur terhadap ukuran partikel. Teramati dua puncak utama, yaitu pada ukuran sekitar 50,22 nm dan 222,1 nm, dengan puncak dominan berada pada 222,1 nm, yang merepresentasikan sebagian besar partikel dalam sistem. Hal ini mengindikasikan bahwa partikel BHB memiliki distribusi polidispers, yaitu terdiri atas dua populasi ukuran.

Hasil pengukuran menunjukkan nilai Z-Average sebesar 900,6 nm dan indeks polidispersitas (PDI) sebesar 0,6692, yang menunjukkan bahwa partikel bersifat polidispers. Sampel ini masih dapat dikategorikan sebagai nanokristal karena seluruh partikel berada dalam rentang sub-mikron dan sebagian besar dalam skala nanometer. Namun, karena sifatnya

polidispers, maka disebut sebagai dispersi nanokristal dengan distribusi ukuran lebar (Alnaim, 2024). Informasi statistik lengkap terkait ukuran partikel, termasuk nilai Di(10), Di(50), dan Di(90), disajikan pada Lampiran B.

#### 4.3 Hasil Imobilisasi Nanokristal BHB pada μPAD

Imobilisasi larutan nanokristal BHB pada perangkat µPAD menghasilkan sebaran visual yang merata di area uji. Hal ini menandakan keberhasilan proses imobilisasi. Tidak tampak adanya kontaminasi antar area uji, yang menunjukkan bahwa penggunaan mikropipet dan bantalan penyerap cukup efektif dalam menjaga kestabilan posisi larutan selama pengeringan.

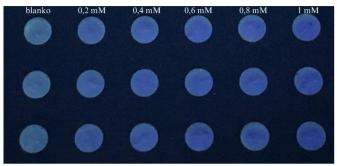


Gambar 4. 4 µPAD terimobilisasi nanokristal BHB saat disinari lampu UV pada panjang gelombang a) 254 nm dan b) 365 nm

Gambar 4.4 menunjukkan area uji di bawah penyinaran UV 254 nm dan 365 nm. Di bawah UV 365 nm, area uji memperlihatkan fluoresensi kebiruan yang khas dari nanokristal BHB, sesuai dengan penelitian oleh Nakane dkk. (2018) yang menyebutkan bahwa senyawa ini menunjukkan emisi biru pada panjang gelombang sekitar 450 nm akibat mekanisme ESIPT. Meskipun intensitas fluoresensi lebih cerah pada UV 365 nm, dalam penelitian ini digunakan UV 254 nm karena menghasilkan kontras visual yang lebih jelas untuk keperluan analisis perubahan warna selanjutnya.

#### 4.4 Hasil Respons Warna µPAD Terimobilisasi BHB terhadap Triptamin

Larutan triptamin dengan konsentrasi bertingkat telah disiapkan dan digunakan sebagai sampel uji dalam sistem  $\mu PAD$  yang dimodifikasi dengan nanokristal BHB. Pengujian ini bertujuan untuk mengevaluasi sensitivitas dan selektivitas sensor dalam mendeteksi triptamin sebagai senyawa target. Selektivitas merupakan aspek krusial dalam pengembangan sensor kimia untuk memastikan bahwa respons yang dihasilkan berasal dari analit yang diinginkan, bukan dari senyawa interferen. Dengan menaikkan konsentrasi triptamin secara bertahap, diharapkan sistem mampu menunjukkan perubahan warna yang konsisten, spesifik, dan dapat dibedakan dari respons terhadap senyawa lain. Hal ini menjadi dasar dalam menilai kemampuan sistem untuk mendeteksi keberadaan triptamin secara kuantitatif melalui analisis visual berbasis perubahan warna.



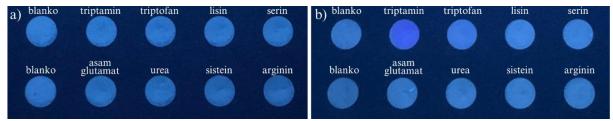
Gambar 4. 5 Perubahan warna pada μPAD yang terimobilisasi BHB setelah penambahan triptamin dengan konsentrasi bertingkat di bawah penyinaran UV 254 nm

Gambar 4.5 menunjukkan respons visual sistem μPAD yang telah terimobilisasi dengan nanokristal BHB terhadap larutan triptamin dengan konsentrasi bertingkat. Secara kasat mata, terjadi perubahan warna dari biru muda pada blanko menjadi biru keunguan yang cenderung semakin pekat seiring peningkatan konsentrasi triptamin. Namun, perubahan warna antar konsentrasi bertingkat tidak tampak kontras secara signifikan, yang kemungkinan disebabkan oleh faktor pencahayaan. Meskipun demikian, fenomena ini mengindikasikan adanya interaksi spesifik antara analit (triptamin) dengan material sensor (BHB). Fenomena ini sejalan dengan prinsip yang dikemukakan oleh Lee dkk. (2015), bahwa sensor berbasis molekul kecil dapat dirancang secara rasional untuk memodulasi sifat fotofisika sistem sebagai respons terhadap pengikatan analit, menghasilkan sinyal visual berupa perubahan warna. Dalam hal ini, triptamin sebagai senyawa amina biogenik diperkirakan berinteraksi dengan nanokristal BHB melalui ikatan hidrogen atau interaksi asam-basa, yang memengaruhi karakteristik emisi sistem.

Mekanisme interaksi ini juga sejalan dengan laporan Zhang dkk. (2022), yang menunjukkan bahwa senyawa aromatik seperti anilin dapat menyebabkan perubahan fluoresensi melalui kombinasi ikatan hidrogen dan transfer elektron dari gugus amina. Triptamin yang memiliki gugus indol dan amina primer (–NH<sub>2</sub>) berpotensi membentuk interaksi sejenis dengan gugus akseptor elektron pada BHB. Akibatnya, perubahan lingkungan mikroskopik di sekitar BHB dapat memicu modulasi sifat optik seperti intensitas dan warna emisi. Dengan demikian, respons warna yang semakin intens menunjukkan bahwa sistem ini memiliki sensitivitas yang baik serta potensi sebagai sensor selektif berbasis perubahan optik.

#### 4.5 Hasil Uji Selektivitas BHB terhadap Amina Biogenik

Selektivitas merupakan parameter penting dalam pengembangan sensor kimia, terutama untuk mendeteksi senyawa spesifik dalam campuran kompleks. Dalam penelitian ini, BHB diuji terhadap akuades dan beberapa BA, termasuk triptofan, lisin, serin, asam glutamat, urea, sistein, dan arginin untuk mengevaluasi kemampuannya dalam mengenali triptamin secara selektif. Penggunaan akuades sebagai blanko berfungsi sebagai kontrol negatif untuk memastikan bahwa perubahan warna tidak disebabkan oleh BHB itu sendiri pada µPAD. Hasil menunjukkan bahwa area blanko yang tidak mengandung amina biogenik tidak menunjukkan perubahan warna. Pengujian selektivitas terhadap berbagai BA menunjukkan bahwa hanya triptamin yang menghasilkan perubahan warna signifikan pada area uji µPAD setelah penambahan larutan. Gambar 4.6 a) menunjukkan kondisi area uji sebelum penambahan BA, sedangkan b) menunjukkan perubahan visual yang terjadi setelah penambahan masing-masing BA. Perubahan warna yang signifikan hanya diamati pada area uji triptamin, yang menunjukkan pergeseran dari biru menjadi ungu terang. Sementara itu, seluruh area uji lainnya, termasuk blanko dan BA seperti triptofan, lisin, serin, asam glutamat, urea, sistein, dan arginin, tetap menunjukkan warna biru tanpa perubahan visual yang berarti.



Gambar 4. 6 Respons μPAD a) sebelum dan b) setelah penambahan amina biogenik, diamati di bawah sinar UV 254 nm

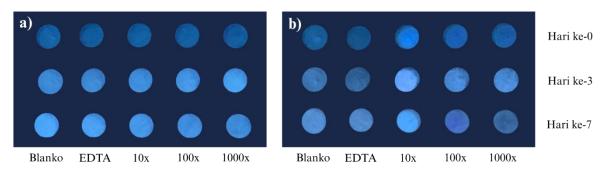
Mekanisme selektivitas ini dapat dijelaskan melalui pendekatan struktur dan interaksi molekuler. Triptamin memiliki struktur aromatik yang mendukung interaksi  $\pi$ - $\pi$  stacking dengan inti benzotiazol pada BHB, serta membentuk ikatan hidrogen antara gugus amino triptamin dan gugus hidroksil BHB. Interaksi ini dapat mengganggu mekanisme Excited-State Intramolecular Proton Transfer (ESIPT), sehingga memicu perubahan fluoresensi selektif terhadap triptamin (Nakane dkk., 2018). Selain itu, penelitian Krishnaveni dkk. (2019) juga melaporkan selektivitas tinggi terhadap triptamin pada sistem sensor berbasis hidrazon melalui penghambatan mekanisme ESIPT dan pembentukan kompleks spesifik. Kesesuaian struktur dan posisi gugus fungsional triptamin berperan penting dalam membentuk interaksi spesifik dengan BHB, sehingga menghasilkan respons visual selektif yang diamati pada pengujian.

Sebagian besar amina biogenik lainnya tidak memiliki struktur molekul yang mendukung interaksi spesifik dengan pusat aktif BHB. Triptofan, meskipun memiliki cincin indol yang secara teoritis dapat berpartisipasi dalam interaksi  $\pi$ – $\pi$  stacking, juga mengandung gugus karboksilat yang menyebabkan molekul berada dalam bentuk zwitterion pada pH netral, sehingga menurunkan reaktivitas gugus aminonya. Sementara itu, lisin dan arginin memiliki rantai samping alifatik panjang dengan gugus amino bermuatan positif yang lebih cenderung membentuk interaksi elektrostatik seperti cation– $\pi$ , namun tidak memiliki sistem aromatik planar yang diperlukan untuk interaksi  $\pi$ – $\pi$  efektif. Hal ini sejalan dengan temuan Van Lommel dkk. (2022) yang menunjukkan bahwa hanya molekul aromatik tertentu dengan orientasi dan substitusi yang sesuai yang mampu membentuk interaksi  $\pi$ – $\pi$  stabil dengan sistem aromatik lainnya.

Selain itu, studi komputasi kuantum oleh Abbas (2017) menggunakan MP2/DFT menunjukkan bahwa serin terutama berinteraksi melalui hydrogen bonding, bukan melalui  $\pi$ - $\pi$  stacking yang membutuhkan struktur aromatik planar. Glutamat sebagai residu bermuatan negatif memiliki distribusi muatan dan geometri yang tidak mendukung terbentuknya interaksi  $\pi$ - $\pi$  secara stabil, karena adanya tolakan elektrostatik serta hambatan spasial (Chakrabarti & Bhattacharyya, 2007). Di sisi lain, Forbes dkk. (2017) menunjukkan bahwa residu sistein dapat membentuk interaksi S-H/ $\pi$  dengan cincin aromatik dalam protein. Namun, interaksi ini jarang terjadi secara alami karena konfigurasi geometri yang diperlukan sangat spesifik, dan hanya sebagian kecil struktur protein resolusi tinggi yang menunjukkan posisi hidrogen sistein dengan jelas. Urea sendiri cenderung berinteraksi secara non-selektif melalui efek hidrofobik dan ikatan hidrogen lemah, tanpa membentuk interaksi spesifik seperti molekul aromatik terkonjugasi (Stumpe & Grubmüller, 2007). Berdasarkan hasil dan analisis struktur molekul yang telah dibahas, dapat disimpulkan bahwa selektivitas BHB terhadap triptamin dipengaruhi oleh keberadaan sistem aromatik dan konfigurasi gugus amino yang memungkinkan terbentuknya interaksi spesifik dengan pusat aktif sensor.

#### 4.6 Hasil Demonstrasi pada Sampel Nyata

Demonstrasi ini dilakukan untuk mengevaluasi apakah sensor dapat merespons keberadaan triptamin dalam matriks kompleks secara selektif dan akurat. Kecap asin dipilih sebagai sampel karena merupakan produk fermentasi yang berpotensi mengandung senyawa amina biogenik, termasuk triptamin. Oleh karena itu, uji ini juga dilakukan untuk menilai sejauh mana metode pengenceran dan penggunaan EDTA dapat mengatasi efek matriks dan menjaga kestabilan sistem  $\mu$ PAD. Hasil pengamatan visual terhadap perubahan warna  $\mu$ PAD pada berbagai tingkat pengenceran dan waktu penyimpanan ditunjukkan pada Gambar 4.7.



Gambar 4. 7 Perubahan warna area uji µPAD a) sebelum dan b) sesudah penambahan kecap asin pada berbagai pengenceran dan waktu inkubasi

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa perubahan warna μPAD berbeda secara nyata antara pengenceran kecap asin 10× dan 100×, serta pada waktu penyimpanan hari ke-0, 3, dan 7. Pada pengenceran 10×, μPAD hanya menunjukkan perubahan warna biru muda secara konsisten di ketiga waktu tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa keberadaan matriks dalam konsentrasi tinggi masih membatasi reaksi antara triptamin dan BHB, sehingga warna yang dihasilkan belum sesuai dengan kurva kalibrasi. Dalam hal ini, komponen kompleks dalam kecap asin seperti garam, protein, asam amino, dan pigmen hasil fermentasi diduga turut berperan melalui apa yang disebut sebagai efek matriks, yakni pengaruh gabungan dari semua komponen selain analit yang dapat memengaruhi hasil pengukuran (Long dkk., 2009). Sebaliknya, pada pengenceran 100×, warna biru keunguan mulai muncul secara jelas pada hari ke-7. Perubahan warna ini lebih kuat dan konsisten, yang mengindikasikan bahwa pengaruh matriks telah berkurang secara signifikan dan kemungkinan telah terjadi pelepasan amina dari matriks, sehingga indikator mampu merespons keberadaan triptamin secara optimal.

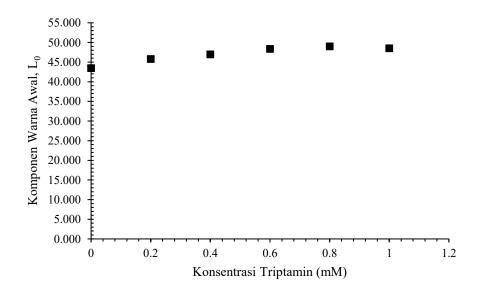
Berdasarkan penelitian Gao dkk. (2022), kecap asin mengandung berbagai unsur logam seperti Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Cd, Sb, dan Pb yang berasal dari bahan baku maupun transfer ion logam dari kemasan. Meski kadarnya masih dalam batas aman, keberadaan logam ini tetap perlu diperhatikan karena dapat memengaruhi kestabilan amina biogenik dan mengganggu kerja indikator warna pada sistem μPAD, khususnya BHB. Untuk mengatasi potensi interferensi ini, EDTA digunakan sebagai agen pengkelat pada tahap pengenceran. DTA merupakan agen pengkelat yang efektif karena mampu membentuk kompleks stabil dengan ion logam, terutama pada pH tinggi. Pada pH sekitar 8, EDTA berada dalam bentuk aktif yang optimal untuk berikatan dengan logam tanpa membentuk endapan, sehingga mendukung reaksi pengkelatan yang efisien dan stabil dalam sistem analisis (The Dow Chemical Company, 2018). Dengan demikian, penggunaan EDTA pada pH ini menciptakan kondisi reaksi yang stabil dan mendukung interaksi selektif antara indikator dan triptamin.

Pada pengenceran 100×, efek matriks kecap asin berkurang secara signifikan, pH sistem lebih terkontrol, dan EDTA bekerja lebih efisien, sehingga memungkinkan interaksi optimal antara triptamin dan indikator BHB. Hal ini membuat respons warna pada μPAD menjadi lebih akurat dan sesuai dengan kadar analit. Hal ini sejalan dengan prinsip sensor berbasis ESIPT yang dijelaskan oleh Nakane dkk. (2018), dimana perubahan warna hanya terjadi ketika transfer proton berlangsung secara optimal dalam lingkungan kimia yang sesuai. Berdasarkan hasil

yang diperoleh, tingkat pengenceran, kestabilan pH, dan waktu inkubasi merupakan variabel penting yang perlu dikendalikan untuk menjamin sensitivitas dan selektivitas  $\mu PAD$  terhadap keberadaan triptamin dalam sampel kecap asin.

# 4.7 Hasil Analisis Perubahan Warna dengan ImageJ 4.7.1 Analisis μPAD yang Terimobilisasi BHB

Respons warna μPAD yang telah terimobilisasi dengan nanokristal BHB dianalisis untuk mengevaluasi karakteristik warna awal sensor. Sampel μPAD dipindai dan diproses menggunakan perangkat lunak ImageJ. Citra kemudian dikonversi ke dalam ruang warna CIELAB, dengan hasil lengkap disajikan pada Lampiran D.1.1. Nilai intensitas warna pada masing-masing komponen L, a, dan b\* dihitung sebagai dasar pengukuran perubahan warna setelah penambahan analit. Data ini menjadi acuan awal untuk membandingkan respons warna setelah penambahan triptamin pada tahap selanjutnya.



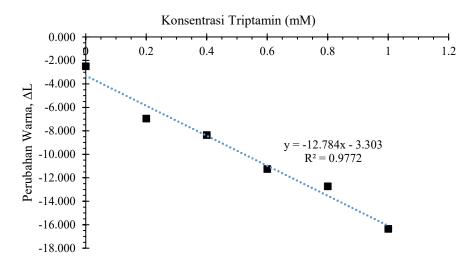
Gambar 4. 8 Grafik hubungan antara L<sub>o</sub> dan konsentrasi triptamin

Grafik pada Gambar 4.8 menunjukkan nilai komponen warna awal L₀ dari area uji μPAD sebelum penambahan triptamin, yang diperoleh melalui analisis citra menggunakan perangkat lunak ImageJ. Nilai L₀ merepresentasikan tingkat kecerahan pada ruang warna CIELAB, dimana nilai negatif mengindikasikan kecenderungan warna yang sangat gelap. Berdasarkan definisi sistem CIELAB menurut Sharma dkk. (2005), nilai L₀ yang relatif konsisten pada berbagai konsentrasi triptamin menunjukkan bahwa sensor memiliki distribusi warna awal yang seragam dan stabil. Konsistensi ini penting sebagai dasar pembanding dalam menghitung perubahan warna (L₀) setelah penambahan analit. Grafik masing-masing komponen warna (a₀, b₀) dapat dilihat secara lengkap pada Lampiran D.1.3.

# 4.7.2 Analisis Respons Warna µPAD Terimobilisasi BHB terhadap Triptamin

Respons warna  $\mu$ PAD yang terimobilisasi dengan nanokristal BHB terhadap triptamin dianalisis untuk mengevaluasi perubahan warna sebagai indikator interaksi kimia. Sampel  $\mu$ PAD diamati sebelum dan sesudah penambahan larutan triptamin, lalu dipindai dan diproses menggunakan perangkat lunak ImageJ. Citra kemudian dikonversi ke dalam ruang warna CIELAB, dengan hasil lengkap disajikan pada Lampiran D.1.1. Nilai intensitas warna pada masing-masing komponen L\*, a\*, dan b\* dihitung untuk memperoleh  $\Delta$ L,  $\Delta$ a,  $\Delta$ b, serta nilai total perubahan warna  $\Delta$ E.

Parameter-parameter perubahan warna tersebut selanjutnya dianalisis secara statistik terhadap variasi konsentrasi triptamin. Berdasarkan hasil analisis regresi, parameter  $\Delta L$  menunjukkan korelasi linear terbaik terhadap konsentrasi triptamin, dengan koefisien determinasi  $R^2 = 0.97$ . Oleh karena itu,  $\Delta L$  dipilih sebagai parameter kuantitatif utama dalam penentuan kadar triptamin menggunakan sistem sensor warna berbasis  $\mu PAD$  terimobilisasi BHB. Parameter ini secara umum digunakan dalam sistem deteksi berbasis perubahan warna karena mewakili perbedaan kecerahan yang paling mudah ditangkap oleh persepsi visual manusia (Sharma dkk., 2005). Hasil analisis regresi untuk parameter warna lainnya ( $\Delta a$ ,  $\Delta b$ , dan  $\Delta E$ ) yang menunjukkan korelasi lebih rendah dapat dilihat secara lengkap pada Lampiran D.1.3.



Gambar 4. 9 Kurva linear hubungan antara konsentrasi triptamin dan perubahan warna (ΔL)

Berdasarkan Sharma dkk. (2005), perubahan  $\Delta L$  yang signifikan mencerminkan perbedaan kecerahan yang dapat diamati secara visual. Berdasarkan Gambar 4.9, nilai  $\Delta L$  menunjukkan penurunan kecerahan yang semakin besar seiring meningkatnya konsentrasi triptamin (hingga -17,703). Nilai tersebut berada jauh di atas ambang batas visibilitas  $\Delta L \geq 2$ , yang menurut Sharma dkk. (2005) sudah dapat dikenali secara kasat mata. Hal ini menunjukkan bahwa sistem sensor mampu memberikan respons visual yang sangat kontras, sehingga valid untuk digunakan dalam deteksi baik secara kualitatif maupun kuantitatif terhadap kandungan triptamin.

Gambar 4.9 menunjukkan hubungan linear antara konsentrasi triptamin (mM) dan perubahan nilai kecerahan ( $\Delta L$ ), dengan persamaan regresi y = -12,784x - 3,303 dan koefisien determinasi  $R^2$  = 0,9772. Nilai ini menunjukkan kekuatan hubungan linear yang sangat tinggi, di mana sekitar 98% variasi  $\Delta L$  dijelaskan oleh konsentrasi triptamin, menjadikan  $\Delta L$  sebagai parameter kuantitatif utama. Berdasarkan kurva regresi tersebut, nilai LOD dapat dihitung menggunakan pendekatan statistik berdasarkan simpangan baku residual dan sensitivitas metode. Dalam hal ini, sensitivitas metode merujuk pada kemiringan (slope) kurva kalibrasi yang menunjukkan perubahan respons terhadap peningkatan konsentrasi analit. Nilai simpangan baku residual ( $\sigma$ ) sebesar 0,5911, dan kemiringan kurva regresi (slope) sebesar -12,784. Diperoleh nilai LOD sebesar:

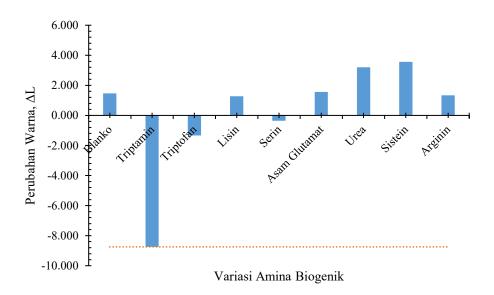
$$LOD = \frac{3,3 \times 0,5911}{12,784} = 0,152 \tag{4.1}$$

Nilai ini mengindikasikan bahwa sistem μPAD berbasis BHB ini cukup sensitif untuk mendeteksi triptamin pada kadar rendah yaitu 0,152 mM, relevan untuk aplikasi monitoring amina biogenik dalam produk pangan.

Dibandingkan dengan metode berbasis HPLC-UV yang diteliti oleh Yang dkk. (2025) dengan LOD triptamin pada kecap asin sebesar 2,0 μg/g, perangkat μPAD dalam penelitian ini memang menunjukkan LOD yang lebih tinggi (0,152 mM atau 24 μg/g). Namun, sistem μPAD memiliki keunggulan tersendiri, seperti kesederhanaan operasional, kecepatan analisis, serta tidak memerlukan instrumen mahal maupun analis terampil. Selain itu, μPAD bersifat portabel dan sangat cocok untuk deteksi di lingkungan dengan keterbatasan sumber daya (Martinez dkk., 2019). Oleh karena itu, metode ini memiliki potensi aplikatif yang tinggi untuk deteksi praktis dan cepat triptamin pada level yang masih relevan secara toksikologis, terutama dalam konteks pemantauan mutu produk fermentasi seperti kecap asin.

#### 4.7.3 Hasil Analisis Uji Selektivitas BHB terhadap Amina Biogenik

Hasil uji selektivitas yang diperoleh pada  $\mu PAD$  terimobilisasi nanokristal BHB dianalisis sebelum dan sesudah penambahan larutan amina biogenik untuk mengevaluasi perubahan warna sebagai indikator reaksi. Gambar  $\mu PAD$  yang dihasilkan kemudian diproses menggunakan perangkat lunak ImageJ dengan mengonversi citra ke ruang warna CIELAB. Hasil konversi dapat dilihat secara lengkap pada Lampiran D.2. Nilai intensitas pada komponen warna L\*, a\*, dan b\* dianalisis secara kuantitatif untuk menghitung  $\Delta L$ ,  $\Delta a$ ,  $\Delta b$ , dan selanjutnya  $\Delta E$ . Grafik perubahan warna kemudian dibuat untuk menggambarkan hubungan antara variasi amina biogenik dan nilai perubahan warna tersebut.



Gambar 4. 10 Grafik perubahan warna (ΔL) setelah penambahan berbagai amina biogenik

Berdasarkan Sharma dkk. (2005), perubahan nilai  $\Delta L$  dapat dijadikan indikator perbedaan visual yang signifikan pada sampel. Umumnya, perubahan  $\Delta L$  sebesar  $\pm$  2 unit atau lebih dianggap sudah dapat terdeteksi secara visual oleh mata manusia. Pada Gambar 4.10, triptamin menunjukkan penurunan  $\Delta L$  yang sangat besar (mencapai sekitar -9), yang artinya terjadi penurunan kecerahan yang cukup besar. Warna menjadi jauh lebih gelap dibandingkan kondisi awal. Nilainya jauh melampaui batas persepsi visual tersebut, sehingga menunjukkan kontras warna yang kuat dan jelas dibandingkan senyawa lainnya. Sementara itu, sebagian besar senyawa lain seperti lisin, asam glutamat, dan arginin menghasilkan  $\Delta L$  positif yang relatif kecil, menunjukkan tidak adanya perubahan warna signifikan secara visual. Grafik perubahan masing-masing komponen warna ( $\Delta L$ ,  $\Delta a$ , dan  $\Delta b$ ) disajikan secara lengkap pada Lampiran D.2.3 sebagai data pendukung.

# BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Perangkat µPAD sederhana yang dimodifikasi BHB berhasil menunjukkan potensi yang baik dalam mendeteksi senyawa triptamin melalui perubahan warna secara visual. Hasil menunjukkan bahwa interaksi antara BHB dan triptamin menghasilkan perubahan warna spesifik, yang dapat diamati secara kasat mata. Uji selektivitas menunjukkan bahwa reagen BHB memberikan respons warna yang berbeda terhadap berbagai amina biogenik, dengan respons tertinggi ditunjukkan pada triptamin sehingga mengindikasikan bahwa BHB memiliki selektivitas yang baik terhadap triptamin dibandingkan amina biogenik lainnya. Demonstrasi pada sampel nyata seperti kecap asin menunjukkan bahwa sistem ini berpotensi digunakan untuk deteksi triptamin secara cepat dan sederhana dalam matriks makanan.

#### 5.2 Saran

Penelitian selanjutnya disarankan untuk mengembangkan metode kuantifikasi terhadap kadar triptamin dalam sampel nyata, misalnya dengan menghubungkan intensitas perubahan warna yang dihasilkan dengan konsentrasi triptamin melalui pembuatan kurva kalibrasi, sehingga memungkinkan penentuan kadar triptamin secara semi-kuantitatif atau kuantitatif dalam sampel nyata seperti kecap asin.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Abbas, H. (2017). First-principles study of interaction of serine with nucleobases of DNA and RNA. *Journal of Biological Physics*, 43(1), 105–111. https://doi.org/10.1007/s10867-016-9436-1
- Alnaim, A. S. (2024). Nanocrystals in Dermal Drug Delivery: A Breakthrough for Enhanced Skin Penetration and Targeted Skin Disorder Treatments. Dalam *Pharmaceutics* (Vol. 16, Nomor 12). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16121561
- Arranz, D., Fernández, E., Szekeres, B., Carvalho, A., Rio, B. del, Redruello, B., & Alvarez, M. A. (2025). Tryptamine accumulates in cheese mainly via the decarboxylation of tryptophan by lactic acid bacteria. *Food Research International*, 199. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.115380
- Chakrabarti, P., & Bhattacharyya, R. (2007). Geometry of nonbonded interactions involving planar groups in proteins. Dalam *Progress in Biophysics and Molecular Biology* (Vol. 95, Nomor 1–3, hlm. 83–137). https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2007.03.016
- Dala-Paula, B. M., Custódio, F. B., & Gloria, M. B. (2023). Health concerns associated with biogenic amines in food and interaction with amine oxidase drugs. Dalam *Current Opinion* in Food Science (Vol. 54). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2023.101090
- Fazekas, B., Pogány, D. G., Galata, D. L., Nagy, Z. K., Mészáros, L. A., & Hirsch, E. (2025). Characterization of digital camera-based UV illumination fluorescent imaging for concentration measurement with limit of detection, specificity and precision. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 210. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2025.107117
- Forbes, C. R., Sinha, S. K., Ganguly, H. K., Bai, S., Yap, G. P. A., Patel, S., & Zondlo, N. J. (2017). Insights into thiol-aromatic interactions: A stereoelectronic basis for S-H/π interactions. *Journal of the American Chemical Society*, 139(5), 1842–1855. https://doi.org/10.1021/jacs.6b08415
- G. Neofotistos, A.-D., S. Tsagkaris, A., P. Danezis, G., & Proestos, C. (2019). Emerging Trends in Biogenic Amines Analysis. Dalam *Biogenic Amines*. IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.81274
- Gao, X., Chen, K., Zhang, Y., & Chi, M. (2022). One-factor-at-a-time method combined with ICP-MS for determining 11 elements in soy sauce and their migration from the containing glass bottles. *Reviews in Analytical Chemistry*, 41(1), 10–20. https://doi.org/10.1515/revac-2022-0031
- Ghosh, R., Gopalakrishnan, S., Savitha, R., Renganathan, T., & Pushpavanam, S. (2019). Fabrication of laser printed microfluidic paper-based analytical devices (LP-μPADs) for point-of-care applications. *Scientific Reports*, 9(1). https://doi.org/10.1038/s41598-019-44455-1
- Hussain, R., Alican Noyan, M., Woyessa, G., Retamal Marín, R. R., Antonio Martinez, P., Mahdi, F. M., Finazzi, V., Hazlehurst, T. A., Hunter, T. N., Coll, T., Stintz, M., Muller, F., Chalkias, G., & Pruneri, V. (2020). An ultra-compact particle size analyser using a CMOS image sensor and machine learning. *Light: Science and Applications*, 9(1). https://doi.org/10.1038/s41377-020-0255-6
- HORIBA. (2022). A guidebook to particle size analysis. HORIBA Scientific.
- Joye, I. J., & McClements, D. J. (2013). Production of nanoparticles by anti-solvent precipitation for use in food systems. Dalam *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 34, Nomor 2, hlm. 109–123). https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.10.002
- Kasai, H., Nakanishi, H., & Oikawa, H. (2018). Fabrication Technique of Organic Nanocrystals and Their Optical Properties and Materialization. Dalam *Nanoparticle Technology*

- Handbook (hlm. 739–744). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64110-6.00070-6
- Kousara, S., Anjuma, S. N., Jaleela, F., Khana, J., & Naseema, S. (2017). Biomedical Significance of Tryptamine: A Review. *Journal of Pharmacovigilance*, 5(5). https://doi.org/10.4172/2329-6887.1000239
- Krishnaveni, K., Murugesan, S., & Siva, A. (2019). Dual-mode recognition of biogenic amine tryptamine and fluoride ions by a naphthyl hydrazone platform: Application in fluorescence imaging of HeLa cells and zebrafish embryos. *New Journal of Chemistry*, 43(23), 9021–9031. https://doi.org/10.1039/c9nj01688k
- Lee, M. H., Kim, J. S., & Sessler, J. L. (2015). Small molecule-based ratiometric fluorescence probes for cations, anions, and biomolecules. *Chemical Society Reviews*, 44(13), 4185–4191. https://doi.org/10.1039/c4cs00280f
- Li, J., Huang, H., Feng, W., Guan, R., Zhou, L., Cheng, H., & Ye, X. (2019). Dynamic changes in biogenic amine content in the traditional brewing process of soy sauce. *Journal of Food Protection*, 82(9), 1539–1545. https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-19-035
- Li, Z., Askim, J. R., & Suslick, K. S. (2019). The Optoelectronic Nose: Colorimetric and Fluorometric Sensor Arrays. Dalam *Chemical Reviews* (Vol. 119, Nomor 1, hlm. 231–292). American Chemical Society. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00226
- Li, Z., Hou, S., Zhang, H., Song, Q., Wang, S., & Guo, H. (2023). Recent advances in fluorescent and colorimetric sensing for volatile organic amines and biogenic amines in food. Dalam *Advanced Agrochem* (Vol. 2, Nomor 1, hlm. 79–87). KeAi Communications Co. https://doi.org/10.1016/j.aac.2023.02.001
- Liu, Y., & Jiang, Y. (2024). The Optimizated CIELAB Colour Model For All-Analog Photoelectronic High Speed Vision-Task Chip (ACCEL) by Creative Computing Approach. *Proceedings 2024 IEEE Winter Conference on Applications of Computer Vision Workshops, WACVW 2024*, 708–715. https://doi.org/10.1109/WACVW60836.2024.00083
- Long, F., Zhu, A. N., Sheng, J. W., He, M., & Shi, H. C. (2009). Matrix Effects on the Microcystin-LR Fluorescent Immunoassay Based on Optical Biosensor. *Sensors*, 9(4), 3000–3010. https://doi.org/10.3390/s90403000
- Mairal Lerga, T., Jauset-Rubio, M., Skouridou, V., Bashammakh, A. S., El-Shahawi, M. S., Alyoubi, A. O., & O'Sullivan, C. K. (2019). High Affinity Aptamer for the Detection of the Biogenic Amine Histamine. *Analytical Chemistry*, 91(11), 7104–7111. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b00075
- Martinez, A. W., Martinez, N. W., & Christensen, E. R. (2019). Paper-based methods. Dalam *Encyclopedia of Analytical Science* (hlm. 129–132). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.13945-9
- Musile, G., Grazioli, C., Fornasaro, S., Dossi, N., De Palo, E. F., Tagliaro, F., & Bortolotti, F. (2023). Application of Paper-Based Microfluidic Analytical Devices (μPAD) in Forensic and Clinical Toxicology: A Review. Dalam *Biosensors* (Vol. 13, Nomor 7). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/bios13070743
- Nakane, Y., Takeda, T., Hoshino, N., Sakai, K. I., & Akutagawa, T. (2018). ESIPT Fluorescent Chromism and Conformational Change of 3-(2-Benzothiazolyl)-4-hydroxy-benzenesulfonic acid by Amine Sorption. *Journal of Physical Chemistry C*, *122*(28), 16249–16255. https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.8b03248
- Nishat, S., Jafry, A. T., Martinez, A. W., & Awan, F. R. (2021). Paper-based microfluidics: Simplified fabrication and assay methods. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 336. https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.129681

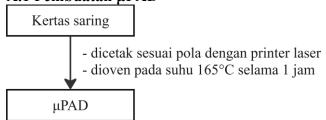
- Park, N. H., Hong, J. Y., Shin, H. J., & Hong, J. (2013). Comprehensive profiling analysis of bioamines and their acidic metabolites in human urine by gas chromatography/mass spectrometry combined with selective derivatization. *Journal of Chromatography A*, 1305, 234–243. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.07.003
- Prado, N. S., Silva, L. A. J., Takeuchi, R. M., Richter, E. M., Falcão, E. H. L., & Luiz dos Santos, A. (2023). Disposable electrochemical sensor for tryptamine detection using a graphite sheet electrode modified with poly(toluidine blue). *Electrochimica Acta*, 466. https://doi.org/10.1016/j.electacta.2023.143029
- Ruiz-Capillas, C., & Herrero, A. M. (2019). Impact of biogenic amines on food quality and safety. Dalam *Foods* (Vol. 8, Nomor 2). MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute. https://doi.org/10.3390/foods8020062
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. Dalam *Nature Methods* (Vol. 9, Nomor 7, hlm. 671–675). https://doi.org/10.1038/nmeth.2089
- Schroeder, A. B., Dobson, E. T. A., Rueden, C. T., Tomancak, P., Jug, F., & Eliceiri, K. W. (2021). The ImageJ ecosystem: Open-source software for image visualization, processing, and analysis. *Protein Science*, 30(1), 234–249. https://doi.org/10.1002/pro.3993
- Sharma, G., Wu, W., & Dalal, E. N. (2005). The CIEDE2000 Color-Difference Formula: Implementation Notes, Supplementary Test Data, and Mathematical Observations. *Col Res Appl*, 30, 21–30. https://doi.org/10.1002/col
- Shrivastava, A., & Gupta, V. (2011). Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chronicles of Young Scientists*, 2(1), 21. https://doi.org/10.4103/2229-5186.79345
- Stumpe, M. C., & Grubmüller, H. (2007). Interaction of urea with amino acids: Implications for urea-induced protein denaturation. *Journal of the American Chemical Society*, 129(51), 16126–16131. https://doi.org/10.1021/ja076216j
- Tang, S., Hao, Q., Huang, Y., Zhao, S., & Hu, K. (2024). Highly selective and sensitive histamine and tryptamine analysis using SiO2@AuNPs@PDA molecularly imprinted polymer coupled with SALDI-TOF MS. *Talanta*, 270. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2023.125538
- The Dow Chemical Company. (2018). Chelation Chemistry: General Concepts of the Chemistry of Chelation. https://www.dow.com/
- Tittarelli, R., Mannocchi, G., Pantano, F., & Romolo, F. S. (2015). Send Orders for Reprints to reprints@benthamscience.ae Recreational Use, Analysis and Toxicity of Tryptamines. Dalam *Current Neuropharmacology* (Vol. 13).
- Uwe, J., Junghanns, A. H., & Müller, R. H. (2008). Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications. Dalam *International Journal of Nanomedicine* (Vol. 3, Nomor 3). https://www.dovepress.com/
- Van Lommel, R., Bettens, T., Barlow, T. M. A., Bertouille, J., Ballet, S., & De Proft, F. (2022). A Quantum Chemical Deep-Dive into the π-π Interactions of 3-Methylindole and Its Halogenated Derivatives—Towards an Improved Ligand Design and Tryptophan Stacking. *Pharmaceuticals*, *15*(8). https://doi.org/10.3390/ph15080935
- Vazquez-Alvarado, M., Vanasupa, S. L., Valdez, E. H., Pama, A. M., Crowder, M. J., Vanasupa, L., Martinez, N. W., & Martinez, A. W. (2023). Evaluation of chromogenic substrates for horseradish peroxidase on paper-based microfluidic devices. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 377. https://doi.org/10.1016/j.snb.2022.133028
- Wójcik, W., Łukasiewicz, M., & Puppel, K. (2021). Biogenic amines: formation, action and toxicity a review. Dalam *Journal of the Science of Food and Agriculture* (Vol. 101, Nomor 7, hlm. 2634–2640). John Wiley and Sons Ltd. https://doi.org/10.1002/jsfa.10928

- Yang, H., Cao, H., & Cao, W. (2025). Precise quantification of 8 biogenic amine monomers in soy sauce with optimized pre-treatment, HPLC-UV and isotope-labeled internal standard LC-MS/MS. *Journal of Food Composition and Analysis*, 139. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2024.107112
- Yasmo Perez, J. P., Chegwin Angarita, C., Saldarriaga Ochoa, O. D., & Urrego Restrepo, S. A. (2025). Development and validation of a HPLC-DAD method for determining the content of tryptamines in methanolic extracts of fruiting bodies of mushrooms belonging to species of the Psilocybe genus. *Talanta*, 290. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2025.127777
- Zhang, L., Wang, S. L., Tan, Y., Tao, G. H., Yuan, W. L., Fu, J., Zhang, G. H., He, L., & Tao, G. (2022). Hydrogen-bonding and "π-π" interaction promoted solution-processable mixed matrix membranes for aromatic amines detection. *Journal of Hazardous Materials*, 430. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128490
- Zhao, X. Q., Wahid, F., Cui, J. X., Wang, Y. Y., & Zhong, C. (2021). Cellulose-based special wetting materials for oil/water separation: A review. Dalam *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol. 185, hlm. 890–906). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.167

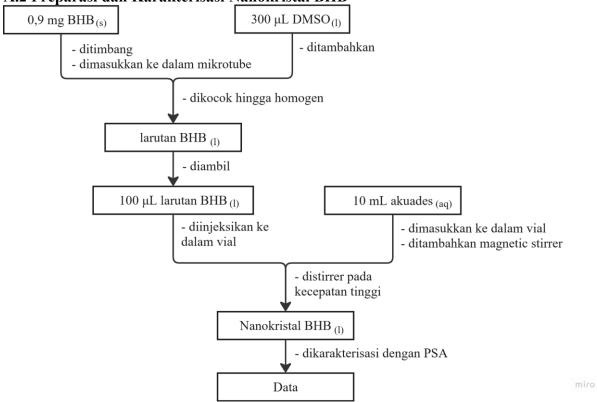
# **LAMPIRAN**

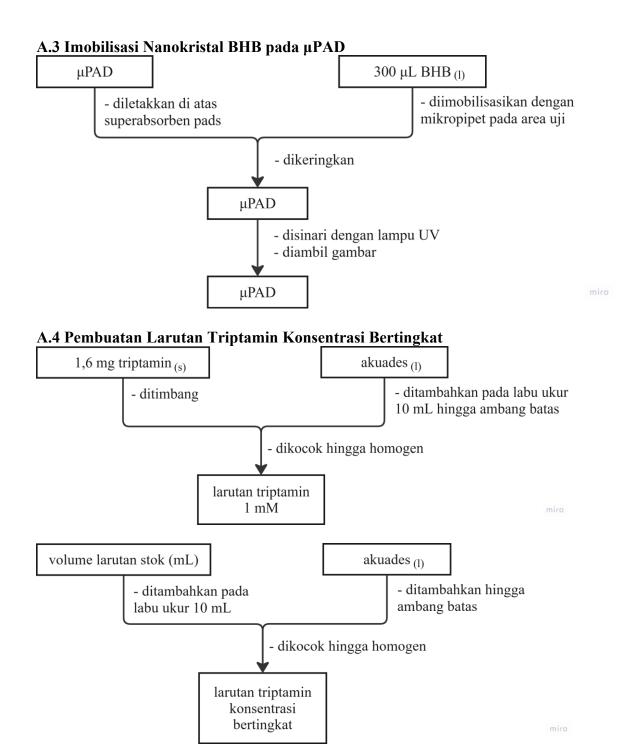
# Lampiran A. Prosedur Kerja

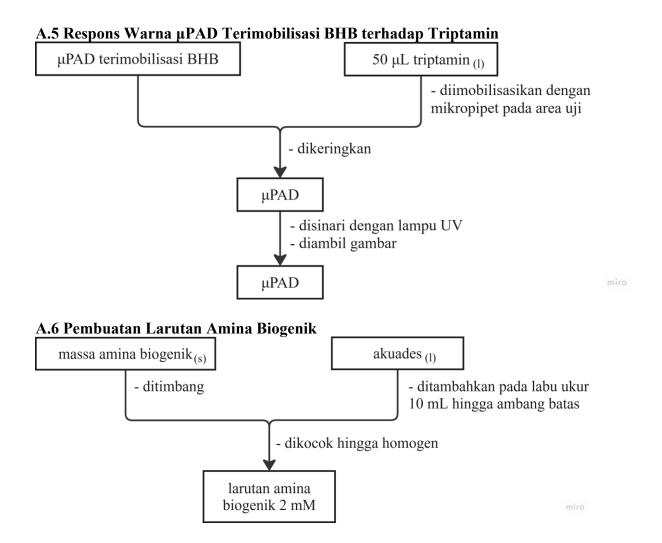
# A.1 Pembuatan μPAD

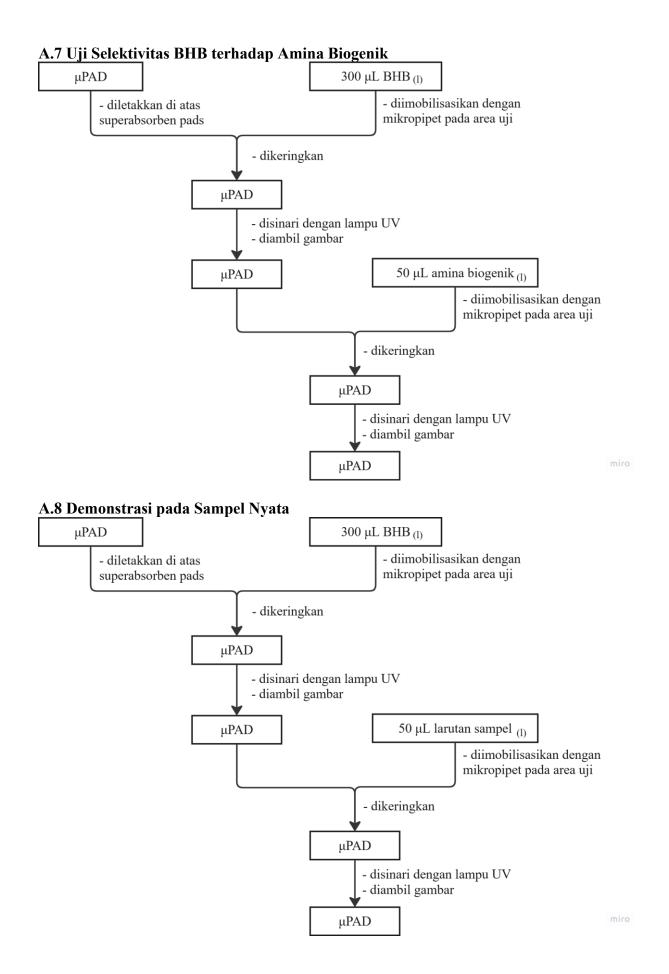


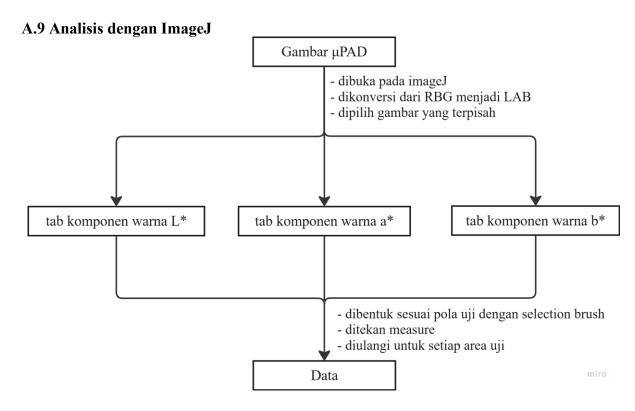
# A.2 Preparasi dan Karakterisasi Nanokristal BHB











#### Lampiran B. Hasil Distribusi Ukuran Nanokristal BHB

Tabel B.1 Ukuran dan Distribusi Partikel BHB

Name	Mean
Z-Average (nm)	900.6
Polydispersity Index (PI)	0.6692
Peak 1 Mean by Intensity ordered by size (nm)	50.22
Peak 1 Mean by Intensity ordered by size (%)	18.59
Peak 2 Mean by Intensity ordered by size (nm)	222.1
Peak 2 Mean by Intensity ordered by size (%)	81.41
Di (10)	50.43
Di (50)	210.1
Di (90)	265.5

# Lampiran C. Perhitungan Massa Zat

Rumus umum:

$$M = \frac{massa}{Mr} \times \frac{1000}{V}$$

$$massa = \frac{M \times Mr \times V}{1000}$$

Keterangan:

M = molaritas (mol/L)

Mr = berat molekul (gram/mol)

V = volume larutan (mL)

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$
  
 $V_1 = \frac{M_2 \times V_2}{M_1}$ 

Keterangan:

 $M_1$  = Konsentrasi awal (larutan stok), dalam mol/L (M)

 $V_1 = V$ olume larutan stok yang diambil untuk diencerkan (mL)

 $M_2$  = Konsentrasi akhir (yang diinginkan setelah pengenceran), dalam mol/L (M)

 $V_2$  = Volume akhir larutan setelah pengenceran (mL)

#### C.1 Perhitungan Massa BHB

Perhitungan dilakukan untuk membuat larutan BHB dengan konsentrasi 10 mM.

Diketahui:

Konsentrasi = 10 mM = 0.01 mol/L

Volume = 300  $\mu$ L = 0,3 mL

Mr BHB = 307,34 gram/mol

Perhitungan:

$$massa = \frac{0.01 \, mol/L \times 307.34 \, gram/mol \times 0.3 \, mL}{1000}$$

$$massa = 0.000922 \, gram = 0.922 \, mg$$

Jadi, massa BHB yang diperlukan sebesar 0,922 mg.

#### C.2 Perhitungan Massa Triptamin

Perhitungan dilakukan untuk membuat larutan triptamin dengan metode pengenceran bertingkat pada variasi konsentrasi 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1 mM. Larutan stok triptamin 1 mM terlebih dahulu dibuat, kemudian dilakukan pengenceran bertahap untuk memperoleh konsentrasi yang lebih rendah.

Perhitungan:

Konsentrasi = 1 mM = 0.001 mol/L

Volume = 10 mL

Mr triptamin = 160,22 gram/mol

$$massa = \frac{0,001 \ mol/L \times 160,22 \ gram/mol \times 10 \ mL}{1000}$$

$$massa = 0,0016 \ gram = 1,6 \ mg$$

Jadi, massa triptamin yang diperlukan untuk membuat 10 mL larutan 1 mM adalah 1,6 mg.

Pembuatan larutan triptamin dimulai dari larutan stok 1 mM, kemudian diikuti dengan pengenceran bertingkat untuk memperoleh konsentrasi 0,8; 0,6; 0,4; dan 0,2 mM. Contoh perhitungan pengenceran EDTA 0,8 mM dari larutan stok 1 mM:

$$V_1 = \frac{0.8 M \times 10 mL}{1 M}$$
$$V_1 = 8 mL$$

Tabel C. 1 Rincian Volume Pengenceran Bertingkat Larutan Triptamin

Tahap	M <sub>1</sub> (asal)	M <sub>2</sub> (target)	V <sub>2</sub> (total)	V1 (diambil)	Volume Pelarut	Keterangan
1	1 mM	0,8 mM	10 mL	8 mL	2 mL	Ambil 8 mL dari 1 mM, tambah 2 mL akuades
2	0,8 mM	0,6 mM	10 mL	7,5 mL	2,5 mL	Ambil 7,5 mL dari 0,8 mM, tambah 2,5 mL akuades
3	0,6 mM	0,4 mM	10 mL	6,67 mL	3,33 mL	Ambil 6,67 mL dari 0,6 mM, tambah 3,33 mL akuades
4	0,4 mM	0,2 mM	10 mL	5 mL	5 mL	Ambil 5 mL dari 0,4 mM, tambah 5 mL akuades

#### C.3 Perhitungan Massa Amina Biogenik (2 mM)

Perhitungan dilakukan untuk menyiapkan larutan berbagai amina biogenik, yaitu triptamin, triptofan, lisin, serin, asam glutamat, urea, sistein, dan arginin, masing-masing dengan konsentrasi akhir sebesar 2 mM.

Contoh perhitungan untuk triptamin:

Konsentrasi = 2 mM = 0.002 mol/L

Volume = 10 mL

Mr triptamin = 160,22 gram/mol

Perhitungan:

$$massa = \frac{0,002 \ mol/L \times 160,22 \ gram/mol \times 10 \ mL}{1000}$$
 
$$massa = 0,0032 \ gram = 3,2 \ mg$$

Jadi, massa triptamin yang diperlukan untuk membuat 10 mL larutan 2 mM adalah 3,2 mg.

Tabel C. 2 Perhitungan Massa Berbagai Amina Biogenik (2 mM, 10 mL)

Senyawa	Mr (gram/mol)	Konsentrasi (mol/L)	Volume (mL)	Massa (mg)
Triptamin	160,22	0,002	10	3,2
Triptofan	204,22	0,002	10	4
Lisin	146,19	0,002	10	2,9
Serin	105,09	0,002	10	2,1
Asam Glutamat	147,13	0,002	10	2,9
Urea	60,056	0,002	10	1,2

Sistein	121,16	0,002	10	2,4
Arginin	174,20	0,002	10	3,4

#### C.4 Perhitungan Massa EDTA

Perhitungan dilakukan untuk menyiapkan larutan EDTA konsentrasi 0,1 M.

Diketahui:

Konsentrasi = 0.1 M

Volume = 100 mL

Mr EDTA = 372,24 gram/mol

Perhitungan:

$$massa = \frac{0.1 \, mol/L \times 372,24 \, gram/mol \times 100 \, mL}{1000}$$

$$massa = 3,72 \, gram$$

Jadi, untuk membuat 100 mL larutan EDTA 0,1 M, dibutuhkan 3,72 gram EDTA yang dilarutkan dan diencerkan dengan akuades hingga volume 100 mL.

Kemudian dilakukan pengenceran menjadi 0,01 M dengan perhitungan:

$$V_{1} = \frac{0.01 \, M \times 100 \, mL}{0.1 \, M}$$

$$V_{1} = 10 \, mL$$

Jadi, untuk membuat 100 mL larutan EDTA 0,01 M, diambil 10 mL larutan 0,1 M lalu ditambahkan pelarut akuades hingga 100 mL total.

#### Lampiran D. Hasil Analisis ImageJ

Rumus umum:

mus umum: 
$$\Delta L_1 = L_{1\ 1} - L_{0\ 1} \qquad \Delta a_1 = a_{1\ 1} - a_{0\ 1} \qquad \Delta b_1 = b_{1\ 1} - b_{0\ 1}$$
 
$$\Delta L_2 = L_{1\ 2} - L_{0\ 2} \qquad \Delta a_2 = a_{1\ 2} - a_{0\ 2} \qquad \Delta b_2 = b_{1\ 2} - b_{0\ 2}$$
 
$$\Delta L_3 = L_{1\ 3} - L_{0\ 3} \qquad \Delta a_3 = a_{1\ 3} - a_{0\ 3} \qquad \Delta b_3 = b_{1\ 3} - b_{0\ 3}$$
 
$$\Delta L = \frac{\Delta L_1 + \Delta L_2 + \Delta L_3}{3} \qquad \overline{\Delta a} = \frac{\Delta a_1 + \Delta a_2 + \Delta a_3}{3} \qquad \overline{\Delta b} = \frac{\Delta b_1 + \Delta b_2 + \Delta b_3}{3}$$
 
$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

Keterangan:

 $\Delta L_1$ ,  $\Delta a_1$ , dan  $\Delta b_1$  = perubahan nilai warna pada pengulangan ke-1, dihitung dari selisih nilai bertanda subskrip 1 (setelah penambahan sampel uji) dan subskrip 0 (sebelum penambahan sampel uji)

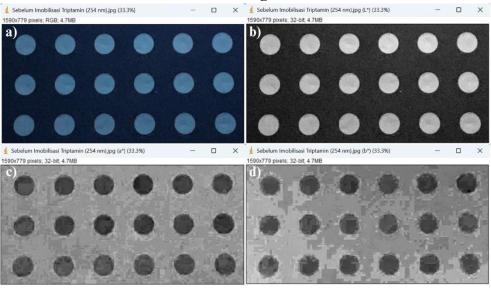
Subskrip 1, 2, dan 3 = nomor pengulangan (replikasi) pengukuran

Nilai  $\Delta \overline{L}$ ,  $\Delta \overline{a}$ , dan  $\Delta \overline{b}$  = rata-rata dari tiga kali pengulangan

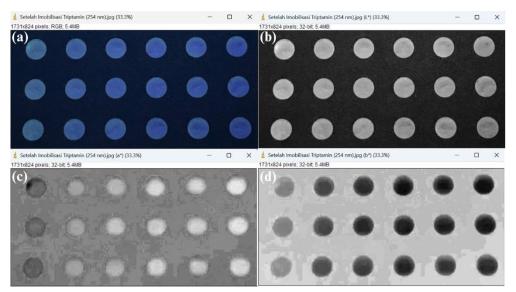
Nilai  $\Delta E$  = total perubahan warna secara keseluruhan

#### D.1 Respons Warna µPAD Terimobilisasi BHB terhadap Triptamin

#### D.1.1 Gambar Hasil Konversi Warna ke Ruang L\*a\*b\*



Gambar D. 1 Konversi citra μPAD terimobilisasi BHB berdasarkan komponen warna (a) gambar asli dalam RGB, (b) L\*, (c) a\*, dan (d) b\*



Gambar D. 2 Konversi citra μPAD sebelum penambahan amina biogenik berdasarkan komponen warna (a) gambar asli dalam RGB, (b) L\*, (c) a\*, dan (d) b\*

#### D.1.2 Hasil Perhitungan $\Delta L$ , $\Delta a$ , $\Delta b$ , dan $\Delta E$

Perhitungan dilakukan untuk menentukan nilai  $\Delta L$ ,  $\Delta a$ ,  $\Delta b$ , dan selanjutnya  $\Delta E$  serta grafik hubungan antara perubahan warna terhadap konsentrasi triptamin.

Tabel D. 1 Nilai komponen warna sebelum (L<sub>0</sub>, a<sub>0</sub>, b<sub>0</sub>) dan sesudah (L<sub>1</sub>, a<sub>1</sub>, b<sub>1</sub>) penambahan triptamin pada berbagai konsentrasi dan tiga pengulangan

	Trp toninin p to to	• • • <u></u>			5" P " 5 " 5 " " 5		
Konsentrasi Triptamin (mM)	Ulangan	Lo	ao	bo	Lı	<b>a</b> 1	b <sub>1</sub>

0	1	45,562	-5,014	-21,703	43,352	0,11	-27,484
	2	43,394	-4,763	-21,731	40,965	0,58	-28,156
	3	41,429	-4,43	-20,622	38,583	-0,978	-25,457
0,2	1	48,236	-6,042	-22,278	40,381	8,423	-37,129
	2	46,387	-6,316	-21,69	39,447	8,145	-36,967
	3	42,620	-4,198	-21,756	36,525	8,46	-36,037
0,4	1	50,957	-6,124	-23,224	40,746	11,333	-40,964
	2	47,494	-6,916	-21,806	38,604	13,161	-42,002
	3	42,428	-3,911	-22,113	36,434	10,289	-38,036
0,6	1	53,462	-7,745	-22,192	39,879	13,566	-42,506
	2	47,755	-6,548	-21,569	38,103	13,925	-42,59
	3	43,812	-4,200	-22,143	33,255	12,991	-38,888
0,8	1	53,465	-6,157	-23,33	39,265	14,416	-43,654
	2	48,844	-5,974	-22,407	36,446	14,637	-42,799
	3	44,650	-5,167	-22,427	33,057	12,521	-39,36
1	1	52,320	-5,829	-23,53	34,617	17,886	-44,833
	2	49,560	-7,124	-21,521	32,968	17,389	-44,571
	3	43,661	-5,072	-21,771	28,897	16,222	-41,163

Contoh perhitungan nilai  $\Delta L$ ,  $\Delta a$ ,  $\Delta b$ , dan  $\Delta E$  untuk menganalisis respons warna sensor BHB pada konsentrasi triptamin 0,2 mM:

$$\Delta L_1 = 40,381 - 48,236 = -7,855$$

$$\Delta L_2 = 39,447 - 46,387 = -6,940$$

$$\Delta L_3 = 36,525 - 42,620 = -6,095$$

$$\overline{\Delta L} = \frac{(-7,885) + (-6,940) + (-6,095)}{3} = -6,963$$

$$\Delta a_1 = 8,423 - (-6,042) = 14,465$$

$$\Delta a_2 = 8,145 - (-6,136) = 14,461$$

$$\Delta a_3 = 8,46 - (-4,198) = 8,46$$

$$\overline{\Delta a} = \frac{14,465 + 14,461 + 8,46}{3} = 13,861$$

$$\Delta b_1 = (-37,129) - (-22,278) = -14,851$$

$$\Delta b_2 = (-36,967) - (-21,69) = -15,277$$

$$\Delta b_3 = (-36,037) - (-21,756) = -14,281$$

$$\overline{\Delta b} = \frac{(-14,851) + (-15,277) + (-14,281)}{3} = -14,803$$

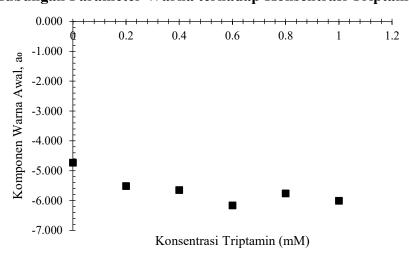
$$\Delta E = \sqrt{(-6,963)^2 + (13,861)^2 + (-14,803)^2} = 21,442$$

Tabel D. 2 Nilai rata-rata ΔL, Δa, Δb, dan ΔE pada berbagai konsentrasi triptamin

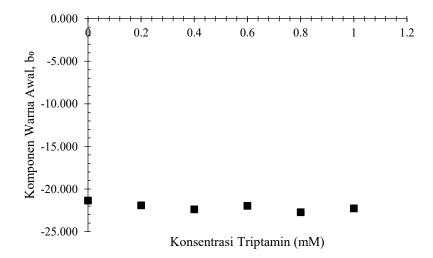
Konsentrasi Triptamin (mM)	$\overline{\Delta L}$	$\overline{\Delta a}$	$\overline{\Delta b}$	ΔE
0	-2,495	4,640	-5,680	7,747
0,2	-6,963	13,861	-14,803	21,442
0,4	-8,365	17,245	-17,953	26,261
0,6	-11,264	19,658	-19,360	29,802

0,8	-12,730	19,624	-19,216	30,273
1	-16,353	23,174	-21,248	35,439

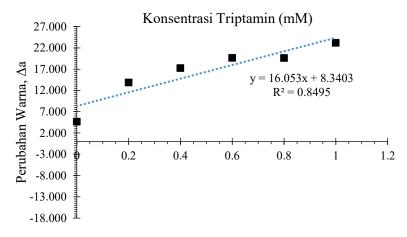
# D.1.3 Grafik Hubungan Parameter Warna terhadap Konsentrasi Triptamin



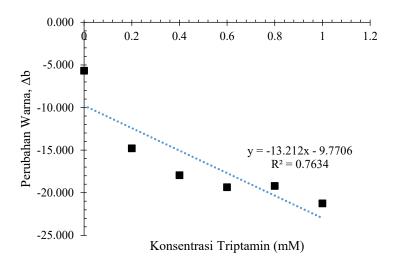
Gambar D. 3 Grafik hubungan antara ao dan konsentrasi triptamin



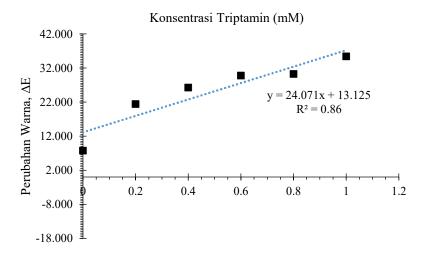
Gambar D. 4 Grafik hubungan antara bo dan konsentrasi triptamin



Gambar D. 5 Grafik hubungan antara konsentrasi triptamin dan perubahan warna (Δa)



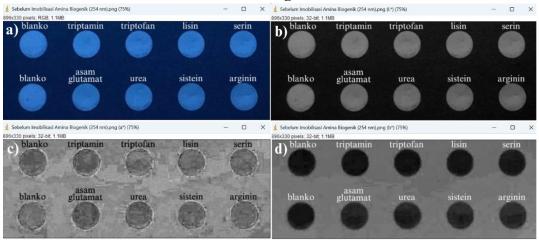
Gambar D. 6 Grafik hubungan antara konsentrasi triptamin dan perubahan warna (Δb)



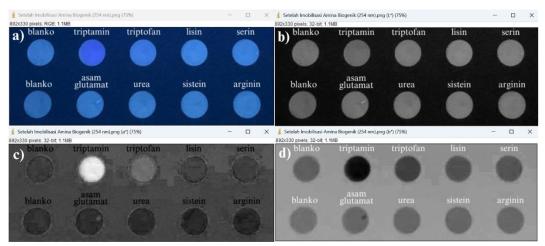
Gambar D. 7 Grafik hubungan antara konsentrasi triptamin dan perubahan warna (ΔE)

# D.2 Uji Selektivitas BHB terhadap Amina Biogenik

# D.2.1 Gambar Hasil Konversi Warna ke Ruang L\*a\*b\*



Gambar D. 8 Konversi citra μPAD sebelum penambahan amina biogenik berdasarkan komponen warna (a) gambar asli dalam RGB, (b) L\*, (c) a\*, dan (d) b\*



Gambar D. 9 Konversi citra μPAD setelah penambahan amina biogenik berdasarkan komponen warna (a) gambar asli dalam RGB, (b) L\*, (c) a\*, dan (d) b\*

#### D.2.2 Hasil Perhitungan $\Delta L$ , $\Delta a$ , $\Delta b$ , dan $\Delta E$

Perhitungan dilakukan untuk menentukan nilai  $\Delta L$ ,  $\Delta a$ ,  $\Delta b$ , dan selanjutnya  $\Delta E$  serta grafik hubungan antara perubahan warna terhadap variasi amina biogenik.

Tabel D. 3 Nilai komponen warna sebelum (Lo, ao, bo) dan setelah (L1, a1, b1) penambahan amina biogenik

Amina Biogenik	$L_{o}$	ao	bo	$L_1$	<b>a</b> 1	b <sub>1</sub>
Blanko	42.868	7.102	-46.014	44.332	2.578	-43.467
Triptamin	48.074	7.076	-46.539	39.327	39.884	-73.699
Triptofan	46.865	8.182	-47.577	45.534	12.628	-50.61
Lisin	46.548	7.509	-46.735	47.825	4.079	-43.39
Serin	45.459	7.371	-47.849	45.106	4.388	-41.465
Asam Glutamat	43.912	6.302	-46.649	45.475	4.434	-41.738

Urea	43.689	6.92	-46.354	46.886	4.877	-42.93
Sistein	41.490	7.068	-46.949	45.054	4.841	-42.158
Arginin	40.467	7.419	-46.411	41.800	4.681	-40.188

Contoh perhitungan nilai  $\Delta L$ ,  $\Delta a$ ,  $\Delta b$ , dan  $\Delta E$  pada amina biogenik triptamin:

$$\Delta L = 41,760 - 38,975 = -3,945$$

$$\Delta a = 39,884 - 7,076 = 27,661$$

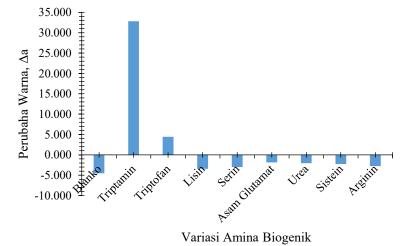
$$\Delta b = (-64,135) - (-43,326) = -25,892$$

$$\Delta E = \sqrt{(-3,945)^2 + (27,661)^2 + (-25,892)^2} = 38,093$$

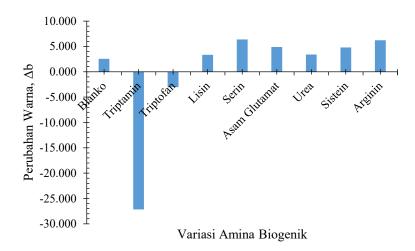
Tabel D. 4 Nilai ΔL, Δa, Δb, dan ΔE pada berbagai amina biogenik

Amina Biogenik	ΔL	Δa	Δb	ΔE
Blanko	1.464	-4.524	2.547	5.394
Triptamin	-8.747	32.808	-27.160	38.093
Triptofan	-1.331	4.446	-3.033	8.877
Lisin	1.277	-3.430	3.345	9.425
Serin	-0.353	-2.983	6.384	6.427
Asam Glutamat	1.563	-1.868	4.911	9.169
Urea	3.197	-2.043	3.424	10.566
Sistein	3.564	-2.227	4.791	11.590
Arginin	1.333	-2.738	6.223	9.980

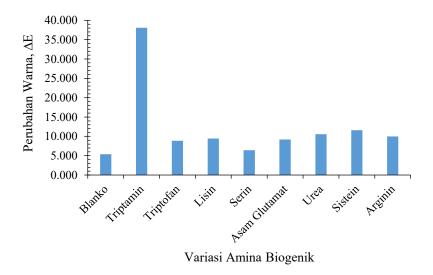
# D.2.3 Grafik Perubahan Warna vs Amina Biogenik



Gambar D. 10 Grafik perubahan warna (Δa) setelah penambahan berbagai amina biogenik



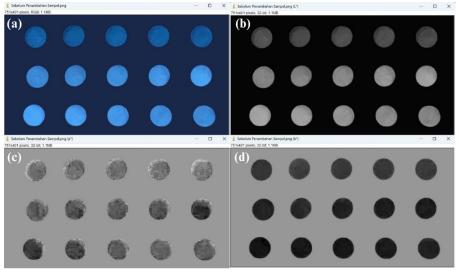
Gambar D. 11 Grafik perubahan warna (Δb) setelah penambahan berbagai amina biogenik



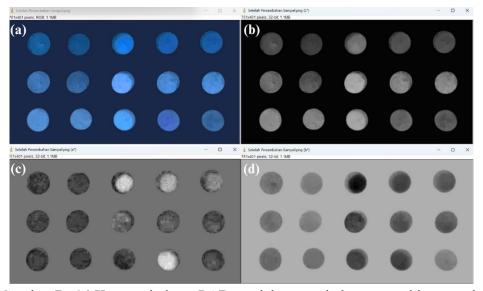
Gambar D. 12 Grafik perubahan warna (ΔE) setelah penambahan berbagai amina biogenik

#### D.3 Demonstrasi Sampel pada Sampel Nyata

# D.3.1 Gambar Hasil Konversi Warna ke Ruang L\*a\*b\*



Gambar D. 13 Konversi citra μPAD sebelum penambahan sampel kecap asin berdasarkan komponen warna (a) gambar asli dalam RGB, (b) L\*, (c) a\*, dan (d) b\*



Gambar D. 14 Konversi citra  $\mu$ PAD setelah penambahan sampel kecap asin berdasarkan komponen warna (a) gambar asli dalam RGB, (b) L\*, (c) a\*, dan (d) b\*

#### D.3.2 Hasil Perhitungan $\Delta L$ , $\Delta a$ , $\Delta b$ , dan $\Delta E$

Perhitungan dilakukan untuk menentukan nilai  $\Delta L$ ,  $\Delta a$ ,  $\Delta b$ , dan selanjutnya  $\Delta E$  serta grafik hubungan antara perubahan warna terhadap variasi pengenceran sampel kecap asin.

Tabel D. 5 Nilai komponen warna sebelum (L<sub>0</sub>, a<sub>0</sub>, b<sub>0</sub>) dan setelah (L<sub>1</sub>, a<sub>1</sub>, b<sub>1</sub>) penambahan sampel kecap asin

Variasi Pengenceran	Lo	ao	bo	$L_1$	<b>a</b> 1	<b>b</b> <sub>1</sub>			
Sampel Hari ke-0									
Blanko	41.963	2.687	-42.282	39.463	1.008	-38.196			

EDTA	38.93	2.701	-40.581	34.294	1.659	-35.553			
10x	40.594	2.818	-41.731	49.947	11.146	-56.621			
100x	40.227	3.16	-41.983	40.666	10.072	-48.67			
1000x	38.157	3.813	-41.168	38.913	6.775	-44.192			
	Sa	mpel Hai	ri ke-3						
Blanko	57.103	1.267	-45.986	51.142	0.984	-37.286			
EDTA	56.552	0.942	-44.778	47.041	0.794	-34.69			
10x	58.363	1.453	-46.99	64.146	6.317	-51.822			
100x	61.294	0.932	-47.612	56.167	2.718	-41.287			
1000x	64.591	-1.84	-47.12	56.853	1.48	-40.221			
Sampel Hari ke-7									
Blanko	67.173	-1.187	-49.045	58.772	1.118	-40.687			
EDTA	65.206	-0.164	-48.523	56.104	0.948	-38.68			
10x	61.438	1.433	-48.506	65.383	0.743	-49.501			
100x	58.71	2.068	-47.652	46.936	13.775	-49.754			
1000x	57.227	1.845	-46.702	42.959	2.561	-34.62			

Contoh perhitungan nilai  $\Delta L, \Delta a, \Delta b,$  dan  $\Delta E$  pada variasi EDTA hari ke-0:

$$\Delta L = 34,294 - 38,93 = -4,636$$

$$\Delta a = 1,659 - 2,701 = -1,042$$

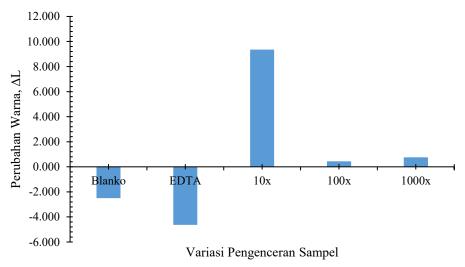
$$\Delta b = (-35,553) - (-40,581) = 5,028$$

$$\Delta E = \sqrt{(-4,636)^2 + (-1,042)^2 + (5,028)^2} = 6,198$$

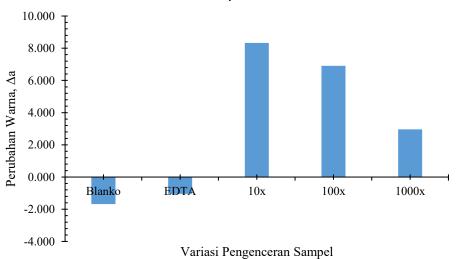
Tabel D. 6 Nilai  $\Delta L$ ,  $\Delta a$ ,  $\Delta b$ , dan  $\Delta E$  pada berbagai variasi pengenceran sampel

Hari ke-	Variasi Pengenceran	$\Delta \mathbf{L}$	$\Delta \mathbf{A}$	$\Delta \mathbf{B}$	$\Delta \mathbf{E}$
0	Blanko	-2.500	-1.679	4.086	5.076
	EDTA	-4.636	-1.042	5.028	6.918
	10x	9.353	8.328	-14.890	19.456
	100x	0.439	6.912	-6.687	9.627
	1000x	0.756	2.962	-3.024	4.300
3	Blanko	-5.961	-0.283	8.700	10.550
	EDTA	-9.511	-0.148	10.088	13.865
	10x	5.783	4.864	-4.832	8.969
	100x	-5.127	1.786	6.325	8.336
	1000x	-7.738	3.320	6.899	10.886
5	Blanko	-8.401	2.305	8.358	12.073
	EDTA	-9.102	1.112	9.843	13.452
	10x	3.945	-0.690	-0.995	4.127
	100x	-11.774	11.707	-2.102	16.736
	1000x	-14.268	0.716	12.082	18.710

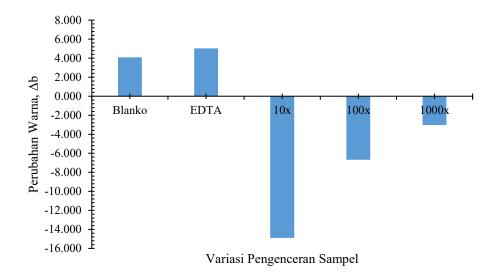
# D.3.3 Grafik Perubahan Warna vs Variasi Pengenceran Sampel Kecap Asin D.3.3.1 Grafik Perubahan Warna vs Variasi Sampel Kecap Asin Hari ke-0



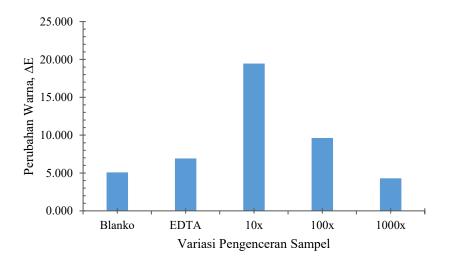
Gambar D. 15 Grafik perubahan warna ( $\Delta L$ ) pada hari ke-0 terhadap variasi pengenceran sampel



Gambar D. 16 Grafik perubahan warna ( $\Delta a$ ) pada hari ke-0 terhadap variasi pengenceran sampel

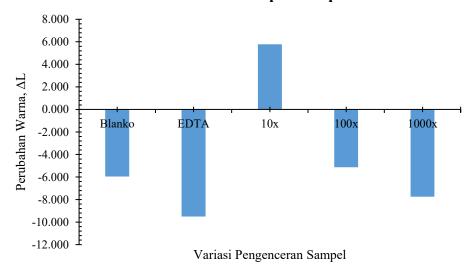


Gambar D. 17 Grafik perubahan warna ( $\Delta b$ ) pada hari ke-0 terhadap variasi pengenceran sampel

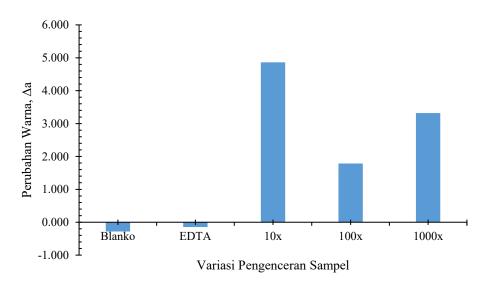


Gambar D. 18 Grafik perubahan warna ( $\Delta E$ ) pada hari ke-0 terhadap variasi pengenceran sampel

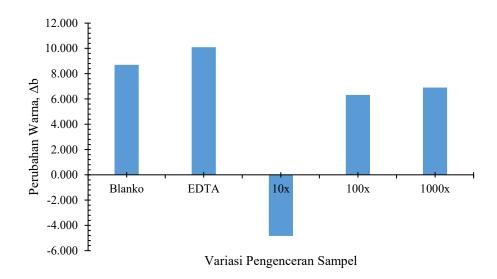
# D.3.3.1 Grafik Perubahan Warna vs Variasi Sampel Kecap Asin Hari ke-3



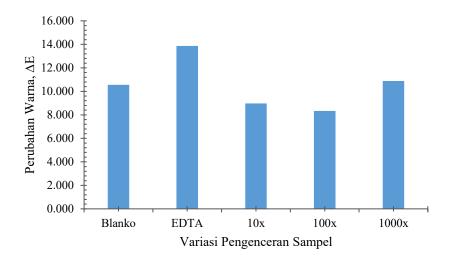
Gambar D. 19 Grafik perubahan warna ( $\Delta L$ ) pada hari ke-3 terhadap variasi pengenceran sampel



Gambar D. 20 Grafik perubahan warna ( $\Delta a$ ) pada hari ke-3 terhadap variasi pengenceran sampel

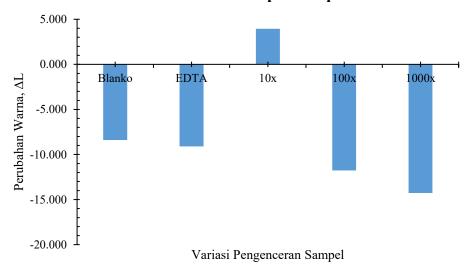


Gambar D. 21 Grafik perubahan warna (Δb) pada hari ke-3 terhadap variasi pengenceran sampel

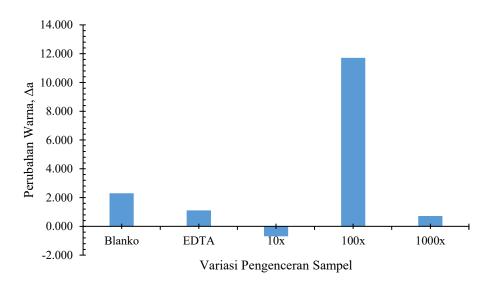


Gambar D. 22 Grafik perubahan warna ( $\Delta E$ ) pada hari ke-3 terhadap variasi pengenceran sampel

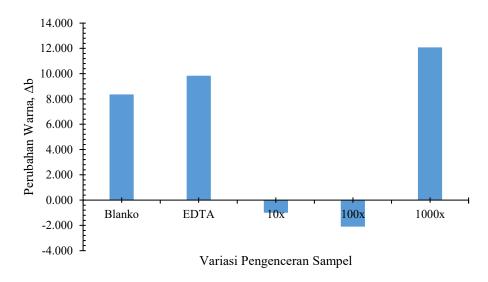
# D.3.3.1 Grafik Perubahan Warna vs Variasi Sampel Kecap Asin Hari ke-7



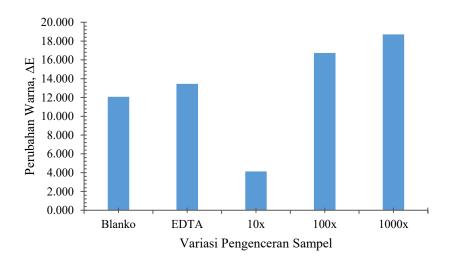
Gambar D. 23 Grafik perubahan warna ( $\Delta L$ ) pada hari ke-7 terhadap variasi pengenceran sampel



Gambar D. 24 Grafik perubahan warna ( $\Delta a$ ) pada hari ke-7 terhadap variasi pengenceran sampel



Gambar D. 25 Grafik perubahan warna (Δb) pada hari ke-7 terhadap variasi pengenceran sampel



Gambar D. 26 Grafik perubahan warna ( $\Delta E$ ) pada hari ke-7 terhadap variasi pengenceran sampel

#### **BIODATA PENULIS**



Penulis dilahirkan di Surabaya, 27 Maret 2003, merupakan anak bungsu dari tiga bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan formal yaitu di TK Pelita Surabaya (2007 – 2009), SDN Wonorejo VI Surabaya (2009 – 2015), SMPN 48 Surabaya (2015 – 2018), dan SMAN 21 Surabaya (2018 – 2021). Setelah lulus dari SMA pada tahun 2021, penulis melanjutkan pendidikan melalui jalur SBMPTN dan diterima di Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Analitika Data, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) yang terdaftar dengan NRP 5004211055. Selama menempuh pendidikan di Departemen Kimia, penulis memfokuskan minat penelitiannya pada bidang kimia analitik. Selain aktif dalam kegiatan akademik, penulis juga aktif dalam berbagai organisasi kemahasiswaan di ITS. Penulis

pernah menjabat sebagai staf Departemen Social Development Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMKA) ITS yang berfokus pada kegiatan sosial kemasyarakatan. Selain itu, penulis juga aktif dalam UKM Pencinta Lingkungan Hidup SIKLUS (PLH SIKLUS) ITS dengan menjabat sebagai Bendahara Umum. Selama di PLH SIKLUS ITS, penulis juga berkontribusi secara aktif dalam berbagai program kegiatan yang berfokus pada pelestarian lingkungan hidup dan pengabdian masyarakat. Kegiatan tersebut mencakup program penanaman mangrove, advokasi lingkungan hidup, konservasi karbon dan air, serta talkshow lingkungan hidup. Penulis dapat dihubungi melalui surat elektronik dengan alamat violawitya@gmail.com.