



## Pengembangan Sensor Kimia Berbasis Kertas untuk Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Jambu Biji

(*Development of Paper-Based Chemical Sensor for Determining The Total Flavonoid Content in Guava Leaf Extract*)

Mochammad Amrun Hidayat<sup>a,b\*</sup>, Husnatul Ayniah<sup>b</sup>, Indah Yulia Ningsih<sup>a,b</sup>, Tanfidz Alishlah<sup>a</sup>, Bambang Kuswandi<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Kelompok Riset Biomaterial dan Bioproduk, Fakultas Farmasi Universitas Jember

<sup>b</sup>Chemo and Biosensors Group, Fakultas Farmasi Universitas Jember  
Kalimantan I/2, Kampus Tegalboto, Jember, 68121, Indonesia

\*Corresponding author: amrun.farmasi@unej.ac.id

DOI: [10.20961/alchemy.21.2.97150.277-283](https://doi.org/10.20961/alchemy.21.2.97150.277-283)

Received 27 December 2024, Revised 12 February 2025, Accepted 8 April 2025, Published 30 September 2025

### Kata kunci:

AlCl<sub>3</sub>;  
kuersetin;  
NaNO<sub>2</sub>;  
NaOH;  
sensor kimia;  
skanometri.

**ABSTRAK.** Sensor kimia berbasis kertas adalah piranti analisis yang menggunakan membran berpori berupa kertas untuk imobilisasi reagen kimia dan deteksi analit pada sampel volume kecil ( $\mu\text{L} - \text{nL}$ ). Sensor kimia flavonoid total dikembangkan dengan cara melakukan ko-imobilisasi larutan aluminium klorida (AlCl<sub>3</sub>), natrium nitrit (NaNO<sub>2</sub>), dan natrium hidroksida (NaOH) pada kertas menggunakan teknik adsorpsi. Penambahan larutan kuersetin dapat mengubah warna sensor dari putih menjadi kuning yang kemudian dapat ditangkap dan dikuantifikasi dengan program ImageJ, yang dikenal sebagai teknik skanometri. Karakterisasi analitik seperti linearitas, *Limit of Detection* (LOD), *Limit of Quantification* (LOQ), presisi dan akurasi sensor dilakukan dengan menggunakan standar kuersetin. Hasil penentuan kadar flavonoid total sampel daun jambu biji menggunakan metode sensor kimia-skanometri menunjukkan kesesuaian dengan metode spektrofotometri, sehingga memiliki potensi sebagai metode alternatif untuk penentuan kadar flavonoid total.

### Keywords:

AlCl<sub>3</sub>;  
quercetin;  
NaNO<sub>2</sub>;  
NaOH;  
chemical sensor;  
scanometry.

**ABSTRACT.** Paper-based chemical sensors are analytical devices that utilize porous paper membranes for reagent immobilization and analyte detection in small sample volumes ( $\mu\text{L} - \text{nL}$ ). The total flavonoid chemical sensor was developed by co-immobilizing aluminum chloride (AlCl<sub>3</sub>), sodium nitrite (NaNO<sub>2</sub>), and sodium hydroxide (NaOH) solutions onto paper by using the adsorption technique. The introduction of a quercetin solution changed the sensor's color from white to yellow, which subsequently can be captured and quantified using the ImageJ program, known as the scanometric technique. The sensor's analytical characteristics, such as linearity, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), precision, and accuracy, were evaluated using a quercetin standard. The results of determining the total flavonoid content of guava leaf samples using the chemical sensor-scanometric method showed agreement with the spectrophotometric method, indicating its potential as an alternative method for determining total flavonoid content.

## PENDAHULUAN

Ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*) diketahui memiliki berbagai efek farmakologi dan dikembangkan di Indonesia sebagai obat herbal terstandar antidiare dan fitofarmaka untuk meningkatkan jumlah trombosit darah penderita demam berdarah (Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2024; Hidayat *et al.*, 2023). Senyawa aktif utama pada ekstrak daun jambu biji adalah senyawa golongan flavonoid yang harus distandarisasi kadarnya sesuai Farmakope Herbal Indonesia (Farmakope Herbal Indonesia II Edition, 2017). Oleh karenanya, pengembangan metode penetapan kadar flavonoid total ekstrak daun jambu biji perlu dilakukan sebagai upaya standarisasi bahan baku sediaan fitofarmasi.

Metode standar penetapan kadar flavonoid total daun jambu biji adalah metode spektrofotometri dan kromatografi. Metode spektrofotometri UV-Vis adalah metode utama penetapan kadar flavonoid total ekstrak daun

**Cite this as:** Hidayat, M. A., Ayniah, H., Ningsih, I. Y., Alishlah, T., and Kuswandi, B. (2025). Pengembangan Sensor Kimia Berbasis Kertas untuk Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Jambu Biji. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 21(2), 277-283. doi: [http://dx.doi.org/10.20961/alchemy.21.2.97150.277-283](https://doi.org/10.20961/alchemy.21.2.97150.277-283).



jambu biji pada Farmakope Herbal Indonesia ([Farmakope Herbal Indonesia II Edition, 2017](#)) dan pada beberapa penelitian terkini terkait kandungan flavonoid dalam ekstrak daun jambu biji ([Bhardwaj and Naruka, 2023; Bilal et al., 2024; Qin et al., 2023](#)). Metode kromatografi seperti metode kromatografi cair kinerja tinggi tandem spektrometri masa (*HPLC-ESI-QTOF-MS*) juga digunakan untuk penetapan kadar flavonoid total ekstrak daun jambu biji ([Diaz-de-Cerio et al., 2023, 2017](#)). Meski demikian, kedua metode tersebut secara umum membutuhkan peralatan yang mahal, waktu analisis yang lama, jumlah sampel yang besar serta personil yang kompeten dan terampil di bidang kimia analisis ([Hidayat et al., 2023; Kuswandi et al., 2024](#)). Oleh karenanya, pengembangan metode alternatif yang tepat, cepat, murah dan mudah dioperasikan untuk penetapan kadar flavonoid total menjadi penting untuk dilakukan.

Sensor kimia akhir-akhir ini telah banyak dimanfaatkan secara luas untuk piranti analisis, sebagai alternatif instrumentasi kimia seperti spektrofotometer UV-Vis, kromatografi gas (KG) dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Sensor kimia memiliki kemampuan merespons partikel analit melalui reaksi kimia tertentu, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai piranti untuk analisis kualitatif dan analisis kuantitatif sampel ([El Sayed, 2023](#)). Pada sensor kimia, reagen atau elemen rekognisi bereaksi secara kimiawi dengan analit menghasilkan produk yang disertai perubahan energi (misal: listrik, panas, massa) sebagai sinyal yang ditangkap oleh suatu transduser ([Kuswandi, 2010](#)). Reaksi kimia yang menghasilkan produk dengan perubahan warna dapat dianalisis menggunakan sensor kimia dengan transduser optik seperti kolorimeter atau spektrofotometer optik ([El Sayed, 2023](#)).

Penelitian ini bertujuan mengembangkan sensor kimia guna menentukan kadar flavonoid total secara sederhana dan efisien pada sampel daun jambu biji. Konstruksi sensor kimia dibuat dengan membuat pola lingkaran pada kertas menggunakan tinta karet dengan teknik *screen printing*. Setiap area di dalam lingkaran tersebut bertindak sebagai sensor kimia, dimana terjadi reaksi kimia antara reagen ( $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{NaNO}_2$  dan  $\text{NaOH}$ ) dengan flavonoid. Penambahan larutan standar flavonoid seperti kuersetin atau larutan sampel ekstrak pada sensor menyebabkan perubahan warna sensor yang semula putih menjadi kuning. Sensor kemudian dipindai dengan *flatbed scanner* dan diukur intensitas warna kuningnya menggunakan program pengolah gambar digital yang dikenal sebagai metode skanometri ([Hidayat et al., 2023, 2020, 2019](#)). Selanjutnya, optimasi dan karakterisasi (validasi metode analisis) sensor dilakukan terhadap standar flavonoid. Pada tahap akhir, sensor yang sudah tervalidasi ini diaplikasikan pada sampel nyata (ekstrak daun jambu biji).

## METODE PENELITIAN

Bahan kemikalia reagen flavonoid:  $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{NaNO}_2$  dan  $\text{NaOH}$  derajat analisis (*pro analysis*) diperoleh dari Sigma Aldrich® (AS). Air steril untuk obat suntik (*aqua pro injection*) dari PT. Widatra Bhakti (Indonesia) digunakan untuk membuat reagen. Kertas saring Whatman No. 1 (AS) diameter 12 cm digunakan sebagai bahan pendukung (*supporting material*) sensor kimia. Tinta karet warna hitam untuk membuat pola lingkaran sensor menggunakan tinta Sunrise (Indonesia).

Ultrasonikator Elmasonic S180H (Jerman) digunakan untuk mengekstraksi simplisia daun jambu biji. Pemindai dokumen Canon LiDE 120 (Jepang) digunakan sebagai instrumen utama metode skanometri. Metode standar (metode spektrofotometri) menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Vis Hitachi U-1800 (Jepang).

### Ekstraksi Daun Jambu Biji

Daun jambu biji varian daging buah merah dan putih dalam bentuk kering didapatkan dari UPT Materia Medika Batu, Malang. Daun tersebut kemudian dihaluskan dan diayak dengan pengayak No. 100 (ukuran lubang 150  $\mu\text{m}$ ) sesuai Farmakope Indonesia Edisi VI ([Farmakope Indonesia VI Edition, 2020](#)) untuk mendapatkan serbuk simplisia. Ekstrak daun jambu biji dibuat dengan mengekstraksi 1 g simplisia dengan 10 ml etanol 70% dengan metode ultrasonifikasi selama 10 menit. Ekstrak cair kemudian disaring dan disimpan dalam wadah tertutup rapat di *refrigerator* ( $\pm 5^\circ\text{C}$ ).

### Fabrikasi Sensor

Fabrikasi sensor kimia berbasis kertas dibuat sesuai penelitian sebelumnya ([Hidayat et al., 2020, 2019; Kuswandi et al., 2020](#)). Secara singkat, sensor berupa lingkaran (diameter  $\pm 7$  mm) dengan pembatas tinta karet (lebar  $\pm 1$  mm) dibuat dengan teknik *screen printing* dengan konfigurasi 7 baris  $\times$  10 kolom. Larutan  $\text{AlCl}_3$  10%,  $\text{NaNO}_2$  5% dan  $\text{NaOH}$  4% diimobilisasi (masing-masing 0,5  $\mu\text{L}$ ) pada sensor menggunakan teknik adsorpsi.

Sensor yang terbentuk ini kemudian dikeringkan pada suhu kamar ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ) dengan cara diangin-anginkan dan dimasukkan dalam wadah tertutup rapat dan disimpan pada *refrigerator* ( $\pm 5^{\circ}\text{C}$ ).

### Karakterisasi Analisis

Berbagai parameter analisis seperti waktu respon, linieritas, batas deteksi (*LOD* atau *Limit of Detection*) dan batas kuantifikasi (*LOQ* atau *Limit of Quantification*), presisi dan akurasi ditetapkan untuk menilai performa metode analisis yang dikembangkan. Kuersetin, sebagai standar flavonoid digunakan dalam proses karakterisasi sensor kimia-metode skanometri ini. Intensitas warna sensor sebagai data diperoleh dengan mengukur intensitas warna hijau terkoreksi ( $\Delta \text{mean Green}$ ) standar terhadap blangko ( $\Delta \text{mean Green standar} = \text{mean Green blangko} - \text{mean Green standar}$ ) menggunakan program ImageJ (Hidayat *et al.*, 2023).

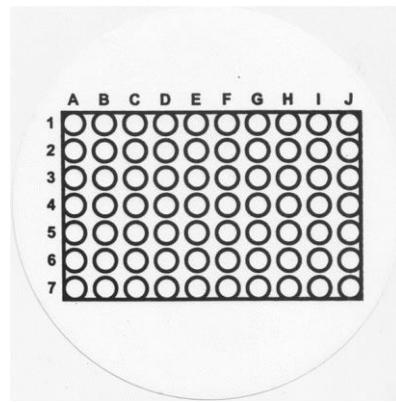
### Aplikasi sensor kimia-metode skanometri pada sampel

Aplikasi metode analisis dilakukan dengan menguji larutan ekstrak daun jambu biji menggunakan sensor kimia-metode skanometri. Dalam hal ini, nilai intensitas warna sensor setelah penambahan larutan sampel dimasukkan dalam kurva baku larutan kuersetin sensor kimia-metode skanometri. Kadar flavonoid total sampel dihitung sebagai mM ekivalen kuersetin (*QE*). Nilai kadar flavonoid total yang diperoleh dari sensor kimia-metode skanometri ini kemudian diperbandingkan dengan nilai kadar flavonoid total metode spektrofotometri menggunakan uji *t* bebas (*independent t test*). Nilai signifikansi (*p*) lebih besar dari nilai  $\alpha$  (0,05) pada uji *t* bebas menunjukkan hasil pengujian yang berkesesuaian diantara kedua metode.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

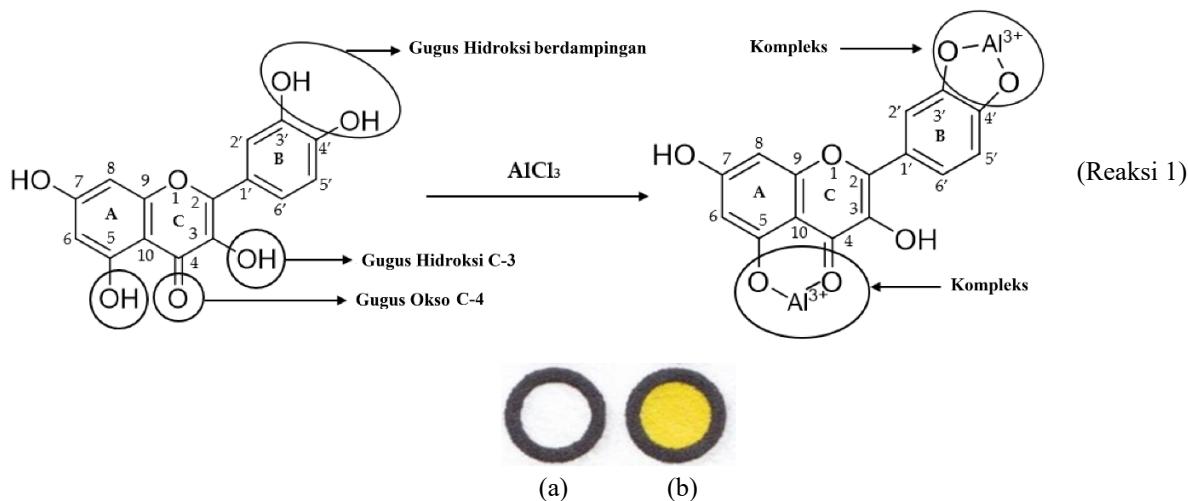
### Fabrikasi Sensor Kimia

Sensor kimia berupa lempeng kertas zona mikro atau *paper microzone plate* (Gambar 1) difabrikasi dengan mengacu pada penelitian sebelumnya (Hidayat *et al.*, 2023, 2020, 2019). Kombinasi huruf dan angka berfungsi sebagai koordinat zona mikro, layaknya koordinat pada sumuran mikro (*microwell plate*). Sensor berupa lingkaran zona mikro ini memiliki pembatas hidrofob terbuat dari tinta karet untuk mencegah kebocoran dan kontaminasi larutan di sekitarnya. Volume serap tiap sensor berkisar 2 – 4  $\mu\text{L}$  ini sangatlah kecil jika dibandingkan dengan volume sumuran mikro ( $\pm 300 \mu\text{L}$ ). Oleh karenanya, sensor yang dikembangkan ini dapat menghemat penggunaan reagen dan larutan uji.



**Gambar 1.** Desain sensor kimia berbasis kertas untuk penentuan kadar flavonoid total.

Proses immobilisasi reagen sensor tidak mengubah warna putih kertas pada zona mikro sensor seperti yang terlihat pada Gambar 2a. Penambahan larutan kuersetin 8 mM (3  $\mu\text{L}$ ) pada sensor menyebabkan perubahan warna sensor menjadi kuning (Gambar 2b) yang dapat diamati oleh mata telanjang. Intensitas warna kuning ini sebanding dengan kadar kuersetin yang ditambahkan. Warna kuning ini menunjukkan adanya senyawa kompleks Al(III)-kuersetin yang terbentuk saat kuersetin direaksikan dengan  $\text{AlCl}_3$  (Reaksi 1). Kompleks ini terbentuk karena ikatan logam Al pada gugus okso C-4 dan gugus hidroksi C-3 struktur kuersetin (Shraim *et al.*, 2021) atau C dengan gugus hidroksi berdampingan (Sultana *et al.*, 2024).

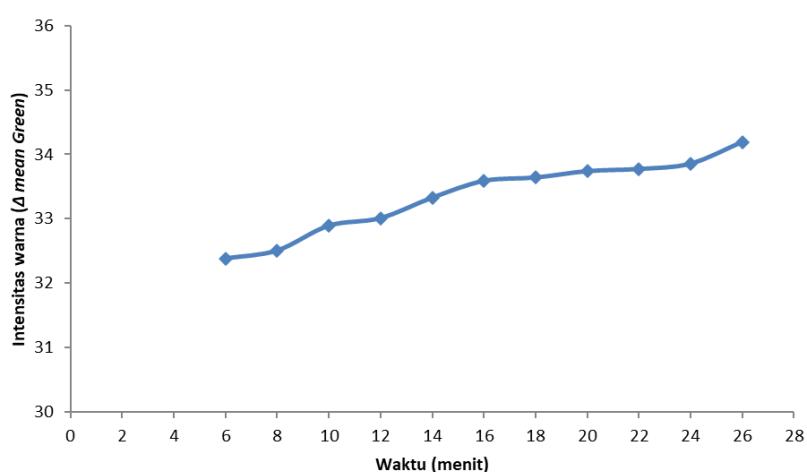


**Gambar 2.** Tampilan visual sensor kimia (a) sebelum dan (b) sesudah ditambah kuersetin.

### Karakterisasi Analisis Sensor

#### Waktu Respon

Penetapan waktu respon dilaksanakan dengan melihat respon sensor setiap 2 menit selama kurun waktu 0 – 22 menit setelah penambahan kuersetin 8 mM hingga diperoleh respon yang stabil atau konstan (Hidayat et al., 2025, 2023). Gambar 3 menunjukkan bahwa respon sensor stabil pada kurun waktu 16 – 24 menit. Oleh karenanya, waktu respon sensor pada menit ke-16 ini digunakan dalam proses analisis selanjutnya.



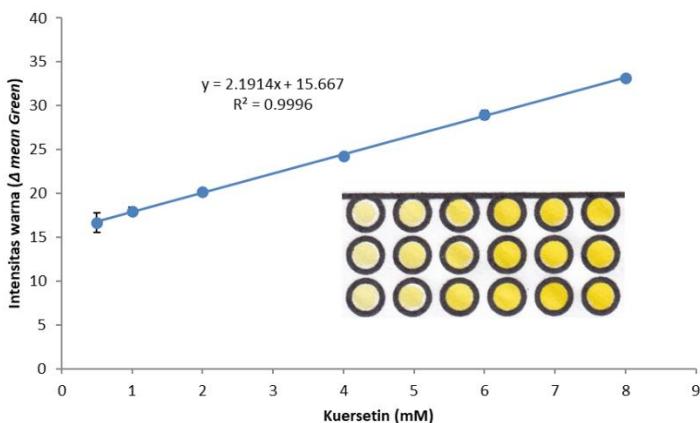
**Gambar 3.** Profil respon sensor selama kurun waktu 0 – 26 menit setelah penambahan kuersetin 8 mM.

#### Linieritas

Linieritas sensor dievaluasi dengan mengukur respon sensor setelah penambahan kuersetin (0,5 – 8,0 mM) secara independen pada menit ke-16, 18 dan 20. Pada semua kurva kalibrasi terlihat bahwa respon sensor linier, yang ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) mendekati 1 (nilai  $r$  menit ke-16 = 0,992, menit ke-18 = 0,999 dan menit ke-20 = 0,985). Penentuan linieritas data menit ke-18 (Gambar 4) menggunakan program *Validation Method Analysis (VMA)* versi 1.5 memberikan nilai  $Vx0$  sebesar 1,75% dan nilai  $X_p$  sebesar 0,3199 sehingga memenuhi parameter linieritas (Indrayanto, 2018; Yuwono and Indrayanto, 2005).

#### Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deteksi ( $LOD$ ) dan Batas kuantifikasi ( $LOQ$ ) digunakan untuk mengetahui batas terkecil konsentrasi flavonoid total (mM  $QE$ ) sampel yang bisa terdeteksi oleh sensor kimia. Nilai  $LOD$  dan  $LOQ$  dihitung dari kurva kalibrasi kuersetin (Gambar 4) menggunakan program *VMA* versi 1.5 (Indrayanto, 2021). Hasil perhitungan menunjukkan batas deteksi ( $LOD$  atau  $X_p$ ) kuersetin sebesar 0,3199 mM, sedangkan batas kuantifikasi ( $LOQ$ ) kuersetin sebesar 0,959 mM.



**Gambar 4.** Kurva kalibrasi kuersetin (0,5 – 8,0 mM) pada menit ke-18 menggunakan sensor kimia (Inzet). Kolom menunjukkan peningkatan konsentrasi kuersetin, baris menunjukkan replikasi kuersetin).

### Presisi

Penentuan presisi atau keterulangan analisis sensor ditentukan dengan mengamati intensitas warna enam sensor secara independen setelah penambahan sampel simulasi (ekivalen kuersetin 2 mM) pada menit ke-16. **Tabel 1** menunjukkan bahwa koefisien variasi (*RSD*) kurang 3%, oleh karenanya metode analisis yang dikembangkan memenuhi persyaratan presisi (Huber, 2007).

**Tabel 1.** Keterulangan analisis sampel simulasi menggunakan metode sensor kimia-skanometri ( $n = 6$ ).

| Sampel     | mean G  | $\Delta$ mean G | Kadar flavonoid total (mM QE) |
|------------|---------|-----------------|-------------------------------|
| Blanko     | 246,174 | -               | -                             |
| 1          | 223,632 | 22,542          | 2,427                         |
| 2          | 223,732 | 22,442          | 2,378                         |
| 3          | 223,030 | 23,144          | 2,717                         |
| 4          | 222,681 | 23,493          | 2,885                         |
| 5          | 224,165 | 22,009          | 2,170                         |
| 6          | 222,840 | 23,334          | 2,809                         |
| Rata-rata  |         | 2,564           |                               |
| SD         |         | 0,583           |                               |
| <i>RSD</i> |         | 2,554           |                               |

### Akurasi

Penentuan akurasi dilakukan dengan menghitung persen perolehan kembali (*recovery*) kadar flavonoid total (mM QE) sampel ekstrak daun jambu biji yang ditambah dengan kuersetin sebesar 30, 45, dan 60% dari kadar flavonoid total awal (mM QE) yang ditetapkan secara spektrofotometri (Shraim *et al.*, 2021). Dalam hal ini, ekstrak daun jambu biji merah dengan kadar flavonoid total awal 2,099 mM QE ditambah kuersetin masing-masing sebesar 8,247; 9,199 dan 10,150 mg sebagai penambahan (adisi) 30, 45, dan 60% dari kadar flavonoid total awal. Demikian juga pada sampel ekstrak daun jambu biji putih dengan kadar flavonoid total awal sebesar 1,685 mM QE ditambahkan kuersetin masing-masing sebesar 6,621; 7,385 dan 8,149 mg sebagai adisi 30, 45, dan 60% kadar flavonoid total awal. Selanjutnya, diukur intensitas warna sensor pada masing-masing sampel adisi. **Tabel 2** menunjukkan bahwa rerata persen perolehan kembali kadar flavonoid total ekstrak daun jambu biji merah dan jambu biji putih masing-masing sebesar 100% dan 99%. Oleh karenanya, metode analisis yang dikembangkan memenuhi parameter akurasi (Huber, 2007).

**Tabel 2.** Prosentsase perolehan kembali kadar flavonoid total sampel daun jambu biji ( $n = 3$ ) menggunakan metode sensor kimia-skanometri.

| Penambahan standar (%) | Jambu biji merah      |                       | Jambu biji putih      |                       |
|------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
|                        | Perolehan kembali (%) | Perolehan kembali (%) | Perolehan kembali (%) | Perolehan kembali (%) |
| 30                     | 98,169 ± 0,798        |                       | 98,505 ± 1,312        |                       |
| 45                     | 100,609 ± 0,637       |                       | 99,688 ± 1,459        |                       |
| 60                     | 102,571 ± 1,102       |                       | 101,644 ± 0,717       |                       |
| Rata-rata              | 100,450 ± 2.205       |                       | 99,946 ± 1,585        |                       |

### Aplikasi sensor

Metode sensor kimia-skanometri yang dikembangkan dalam penelitian ini diaplikasikan pada sampel nyata (ekstrak daun jambu biji dengan daging buah merah dan daging buah putih) ([Gambar 5](#)). Hasil penetapan kadar flavonoid total kedua sampel ekstrak dapat dilihat pada [Tabel 3](#). Hasil uji  $t$  bebas masing-masing sampel menunjukkan nilai signifikansi ( $p$ ) lebih besar daripada nilai  $\alpha$  (0,05), yang berarti tidak ada perbedaan yang bermakna antara hasil penentuan kadar flavonoid total menggunakan metode sensor kimia-skanometri dengan metode spektrofotometri. Oleh karenanya, metode yang dikembangkan menunjukkan kesesuaian dengan metode standar. Berdasarkan hal ini, metode sensor kimia-skanometri memiliki potensi sebagai metode alternatif penentuan kadar flavonoid total sampel ekstrak daun jambu biji.



**Gambar 5.** Perubahan warna sensor setelah penambahan sampel nyata: ekstrak daun (a) jambu biji merah dan (b) jambu biji putih ( $n = 3$ ).

**Tabel 3.** Hasil penetapan kadar flavonoid total sampel ekstrak daun jambu biji metode sensor kimia-skanometri dan metode spektrofotometri ( $n = 3$ ,  $\alpha = 0,05$ ).

| Sampel           | Kadar flavonoid total (mM QE) |                   | $p$   |
|------------------|-------------------------------|-------------------|-------|
|                  | Sensor kimia-skanometri       | Spektrofotometri  |       |
| Jambu biji merah | $8,222 \pm 0,139$             | $7,933 \pm 0,448$ | 0,347 |
| Jambu biji putih | $8,119 \pm 0,093$             | $8,159 \pm 0,279$ | 0,822 |

### KESIMPULAN

Sensor kimia untuk penentuan kadar flavonoid total difabrikasi dengan mengimobilisasi reagen  $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{NaNO}_2$  dan  $\text{NaOH}$  pada kertas secara adsorpsi. Respon sensor terhadap kuersetin linier dengan rentang 0,5 – 8,0 mM, batas deteksi dan batas kuantifikasi masing-masing sebesar 0,3199 dan 0,959 mM. Sensor menunjukkan reproducibilitas analisis yang baik ( $RSD < 3\%$ ). Hasil penetapan kadar flavonoid total metode sensor kimia-skanometri menunjukkan kesesuaian dengan metode spektrofotometri, sehingga memiliki potensi sebagai metode alternatif penetapan kadar flavonoid total ekstrak daun jambu biji.

### KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam artikel ini.

### KONTRIBUSI PENULIS

MAH: Konseptualisasi, Metodologi, Software; IYN: Analisis Data, HA: Penulisan Draf Manuskrip; BK: Supervisi; TA: Telaah dan Penyuntingan Manuskrip.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Universitas Jember atas didanainya penelitian ini melalui skim Hibah KeRis (Kelompok Riset) Tahun 2024.

### DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pengawas Obat dan Makanan, 2024. *Cek Produk BPOM: Psidii, HT142300431 dan HT142600421.* <<https://cekbpom.pom.go.id/all-produk?query=PSIDII>> (diakses pada 25 September 2025).
- Bhardwaj, R., and Naruka, D., 2023. The Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Leaf and Fruit Extracts of Guava (*Psidium guajava*). *The Indian Journal of Agricultural Sciences*, 93, 1220–1224. <https://doi.org/10.56093/ijas.v93i11.141132>.
- Bilal, K., Mehboob, F., Akhtar, N., Mirza, I.A., Okla, M.K., Dar, M.J., Saleh, I.A., Zomot, N., and Fatima, H., 2024. Wound Healing, Antioxidant and Antibacterial Activities of Polyphenols of *Psidium guajava L.* Leaves. *South African Journal of Botany*, 165, 538–551. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.12.026>.
- Díaz-de-Cerio, E., Girón, F., Pérez-Garrido, A., Pereira, A.S.P., Gabaldón-Hernández, J.A., Verardo, V., Segura Carretero, A., and Pérez-Sánchez, H., 2023. Fishing the Targets of Bioactive Compounds from *Psidium*

- guajava L.* Leaves in the Context of Diabetes. *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 5761. <https://doi.org/10.3390/ijms24065761>.
- Díaz-de-Cerio, E., Pasini, F., Verardo, V., Fernández-Gutiérrez, A., Segura-Carretero, A., and Caboni, M.F., 2017. *Psidium guajava L.* Leaves as Source of Proanthocyanidins: Optimization of the Extraction Method by RSM and Study of the Degree of Polymerization by NP-HPLC-FLD-ESI-MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 133, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.10.011>.
- El Sayed, S., 2023. Chromo-Fluorogenic Chemosensors for Sensing Applications, in: Fundamentals of Sensor Technology. Elsevier, pp. 631–667. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-88431-0.00020-X>.
- Farmakope Herbal Indonesia II Edition*, 2017. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Farmakope Indonesia VI Edition*, 2020. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Hidayat, M.A., Ilham, H., Ningsih, I.Y., and Kuswandi, B., 2025. The ABTS-Microzone Plate and Scanometry as a Simple and Fast Colorimetric Assay for Determining the Total Antioxidant Capacity of Plant Extract. *Chemical Papers*, 79, 775–782. <https://doi.org/10.1007/s11696-024-03813-8>.
- Hidayat, M.A., Chassana, R.I., Ningsih, I.Y., Yuwono, M., and Kuswandi, B., 2019. The CUPRAC-Paper Microzone Plates as a Simple and Rapid Method for Total Antioxidant Capacity Determination of Plant Extract. *European Food Research and Technology*, 245, 2063–2070. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03312-1>.
- Hidayat, M.A., Maharani, D.A., Purwanto, D.A., Kuswandi, B., and Yuwono, M., 2020. Simple and Sensitive Paper-based Colorimetric Biosensor for Determining Total Polyphenol Content of the Green Tea Beverages. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 25, 255–263. <https://doi.org/10.1007/s12257-019-0299-8>.
- Hidayat, M.A., Rohmah, A., Ningsih, I.Y., and Kuswandi, B., 2023. Development of the Paper-based Colorimetric Sensor for Simple and Fast Determination of Quercetin in Guava Leaf Extract. *Analytical Sciences*, 39, 1703–1710. <https://doi.org/10.1007/s44211-023-00380-y>.
- Huber, L., 2007. *Validation and Qualification in Analytical Laboratories*, second ed. Informa Healthcare. USA, New York.
- Indrayanto, G., 2021. VMA-Solutions Version 1.5.1. <https://github.com/blue-wind-25/VMA-Solutions/releases/tag/1.5.1>.
- Indrayanto, G., 2018. *Validation of Chromatographic Methods of Analysis: Application for Drugs That Derived from Herbs*, in: Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology. pp. 359–392. <https://doi.org/10.1016/bs.podrm.2018.01.003>.
- Kuswandi, B., 2010. *Sensor Kimia (Teori, Praktek dan Aplikasi)*. Jember University Press, Jember.
- Kuswandi, B., Fantoni, M., Hidayat, M.A., and Ningsih, I.Y., 2020. Paper Microzone Plate Based on DPPH as a Simple Colorimetric Assay of the Total Antioxidant Content of Herbal Extracts. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 1971–1976. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04378-6>.
- Kuswandi, B., Prihandini, K., and Hidayat, M.A., 2024. Determination of Lead in Herbal Medicine by a Lab-on-a-Tip (LOT) Optical Fiber Sensor. *Analytical Letters*, 57, 1611–1621. <https://doi.org/10.1080/00032719.2023.2264421>.
- Qin, J., Wang, J., Shao, X., Zhang, S., Chen, X., Lai, D., Xiao, W., Zhuang, Q., and Kuang, S., 2023. Evaluation of Bioactive Compounds, Antioxidant Capacity and Mineral Elements in the Leaves of Guava (*Psidium guajava L.*) Genotypes from China. *Scientia Horticulturae*, 322, 112436. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112436>.
- Shraim, A.M., Ahmed, T.A., Rahman, M.M., and Hijji, Y.M., 2021. Determination of Total Flavonoid Content by Aluminum Chloride Assay: A Critical Evaluation. *LWT*, 150, 111932. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111932>.
- Sultana, S., Hossain, M.L., Sostaric, T., Lim, L.Y., Foster, K.J., and Locher, C., 2024. Investigating Flavonoids by HPTLC Analysis Using Aluminium Chloride as Derivatization Reagent. *Molecules*, 29, 5161. <https://doi.org/10.3390/molecules29215161>.
- Yuwono, M., and Indrayanto, G., 2005. *Validation of Chromatographic Methods of Analysis*, in: Brittain, H. (Ed.), Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology. Academic Press, Cambridge, pp. 243–259. [https://doi.org/10.1016/S0099-5428\(05\)32009-0](https://doi.org/10.1016/S0099-5428(05)32009-0).

