

Penentuan Kandungan Antioksidan Total pada Infusa Selada Hijau (*Lactuca sativa* L.) Hidroponik dan Konvensional secara Spektrofotometri dengan *Modified Phenantroline Method* (MPM)

Yefrida*, Refilda, Nofi Hamidah, dan Widuri Rosman

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, Sumatra Barat, Indonesia

Corresponding Author:
Yefrida
yefrida@sci.unand.ac.id

Received: December 2021
Accepted: March 2022
Published: March 2022

©Yefrida et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Abstract

Green lettuce is a vegetable that is widely consumed in Indonesia. These vegetables come from conventional and hydroponic farming. This study aims to compare the antioxidant content of these two types of vegetables. This vegetable is extracted by the infundation method. The extract obtained was determined for its antioxidant content by the MPM method. This method was validated by using parameter LoD, LoQ, linearity, precision and accuracy. The results showed that this method was valid for determining the total antioxidant content in conventional and hydroponic green lettuce samples. The total antioxidant content in conventional and hydroponic green lettuce samples was 2.68 ± 0.65 mg AA/g FW and 1.67 ± 0.40 mg AA/g FW, respectively. T test stated that the antioxidant content of the two samples was significantly different.

Keywords: *antioxidant; MPM method; green lettuce; hydroponics*

Pendahuluan

Stres oksidatif disebabkan oleh peningkatan spesies oksigen reaktif (ROS) sehingga terjadi pembentukan radikal bebas, yang dapat merusak protein, lipid, dan DNA^[1]. Kanker merupakan salah satu penyakit degeneratif paling mematikan yang disebabkan oleh radikal bebas. Radikal bebas yaitu molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada kulit atom atau orbital molekul terluarnya. Radikal bebas terbentuk di dalam tubuh manusia secara terus menerus, baik melalui proses metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi, serta pengaruh dari luar tubuh, seperti sinar ultraviolet, polusi lingkungan dan asap rokok^[2]. Antioksidan merupakan zat yang dapat menunda pembentukan radikal bebas sehingga dapat

memperlambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi^[3].

Antioksidan dapat diperoleh secara alami maupun sintetis. Antioksidan alami lebih disarankan karena relatif tidak menimbulkan efek samping dibandingkan antioksidan sintetis apabila dikonsumsi dalam jangka panjang. Senyawa antioksidan yang berasal dari sumber alami sebagian besar berasal dari tumbuhan. Umumnya senyawa antioksidan alami yang terdapat pada tumbuhan adalah senyawa fenolik berupa golongan flavonoid, kumarin, turunan asam sinamat, dan asam organik polifungsional^[4]. Antioksidan alami terdapat pada tumbuhan karena mengandung senyawa metabolit sekunder sehingga antioksidan bisa kita dapatkan dengan cara rutin mengonsumsi sayur-sayuran.

Sayuran merupakan makanan pelengkap yang biasanya dikonsumsi dengan nasi dan lauk atau memakannya secara langsung. Terdapat berbagai macam jenis sayuran yang biasa dikonsumsi seperti, selada, sawi hijau, wortel, bayam, kangkung, dan lain-lain^[5]. Selada hijau (*Lactuca sativa* L.) memiliki daun berwarna hijau, bergerigi dan sering ditemui sebagai lalapan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa selada mengandung metabolit sekunder seperti senyawa fenolik, flavonoid, asam fenolik, karotenoid, asam askorbat, dan folat yang baik untuk tubuh^[6].

Semakin meningkatnya jumlah penduduk, maka kebutuhan akan bahan pangan bernutrisi seperti sayuran juga meningkat. Pada era modern saat ini, lahan pertanian semakin sedikit terutama di daerah perkotaan. Salah satu alternatif yang dapat dilakukan yaitu budidaya hidroponik. Hidroponik merupakan sistem bercocok tanam tanpa media tanah sehingga tidak diperlukan lahan pertanian yang luas. Hidroponik memanfaatkan air sebagai media nutrisi yang akan langsung diserap oleh tanaman sebagai penunjang pertumbuhannya^[7]. Hidroponik memiliki peluang lebih sedikit untuk terserang hama dan organisme patogen. Budidaya hidroponik dapat memberikan kontrol terhadap kualitas dan kuantitas tanaman melalui pemasokan nutrisi dan mengurangi kendala apabila terjadi cuaca buruk^[8]. Budidaya konvensional merupakan sistem bercocok tanam menggunakan media tanah. Sistem ini menggunakan biaya yang relatif rendah, akan tetapi kualitas dan kuantitas tanaman sangat bergantung pada faktor lingkungan yang terkadang sulit diprediksi^[8]. Hasil penelitian Lei et al (2021) dan Zapata-Vahos et al (2020) menunjukkan bahwa pada selada yang ditanam secara konvensional memiliki kandungan antioksidan total lebih tinggi dibandingkan dengan yang ditanam secara hidroponik^{[6],[7]}. Hal yang sama didapatkan oleh Strzemski et al (2020) yang melakukan penelitian pada akar dan daun *Carlina acaulis* L^[8]. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk membandingkan kandungan antioksidan total

pada infusa selada hijau yang ditanam secara hidroponik dan konvensional.

Penentuan kandungan antioksidan total dapat dilakukan secara spektrofotometri UV-Vis dengan beberapa metode seperti DPPH, ABTS, CUPRAC, ORAC, dan FRAP. Metode fenantrolin merupakan modifikasi dari metode FRAP dimana pengompleks pada FRAP yaitu TPTZ (2,4,6-tri (2-pyridyl)-s-triazine) diganti dengan fenantrolin^[9]. Pelarut yang digunakan pada metode FRAP adalah metanol. Penggunaan pelarut organik dapat menghasilkan limbah yang tidak ramah lingkungan, sehingga pada penelitian ini digunakan metode MPM (*Modified Phenanthroline Method*) yaitu dengan cara mengganti pelarut organik tersebut dengan akuades. Metode MPM berdasarkan pada kemampuan reduksi ion Fe(III) menjadi ion Fe(II) oleh antioksidan, kemudian ion Fe(II) yang terbentuk akan bereaksi dengan orto-fenantrolin membentuk senyawa kompleks berwarna merah-jingga^[10]. Metode MPM ini sudah digunakan untuk penentuan kandungan antioksidan total dalam buah dan sayur^{[9],[10]}.

$Fe^{3+} + \text{antioksidan} \rightarrow Fe^{2+} + \text{antioksidan teroksidasi}$

$Fe^{2+} + \text{Fenantrolin} \rightarrow Fe(\text{Fenantrolin})^{2+}$

Metode MPM ini perlu dilakukan validasi terlebih dahulu karena metode ini bukan metode standar. Tujuan validasi metode ini yaitu untuk membuktikan bahwa metode MPM ini valid digunakan dalam penentuan kandungan antioksidan total pada infusa selada hijau hidroponik dan konvensional. Parameter yang akan dilakukan untuk validasi metode yaitu linieritas, LoD dan LoQ, SDR, dan perolehan kembali.

Pada penelitian ini, digunakan metode infundasi untuk mengekstrak kandungan antioksidan di dalam sampel. Metode ini dilakukan dengan cara merebus sampel dengan akuades pada suhu 90°C selama 15 menit. Metode ini dipilih karena pada umumnya masyarakat mengkonsumsi sayur dengan cara merebusnya.

Metodologi Penelitian

Bahan kimia

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu selada hijau (*Lactuca sativa* L.), orto-fenantrolin (Merck), asam askorbat (Merck), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck), aluminium foil, dan kertas saring.

Peralatan

Alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya yaitu spektrofotometer UV-Vis (Genesys 20), neraca analitik (Mettler 200), *hotplate*, dan peralatan gelas laboratorium.

Prosedur penelitian

Pengambilan sampel

Sampel yang digunakan adalah selada hijau (*Lactuca sativa* L.) yang ditanam secara hidroponik dan konvensional, masing-masing di sepuluh tempat berbeda di kota Padang.

Preparasi dan ekstraksi sampel

Masing-masing sampel diambil bagian daunnya dan dipotong kecil-kecil, lalu ditimbang sebanyak ± 1 g. Setelah itu ditambahkan akuades sebanyak 50 mL dan direbus dengan suhu 90°C selama 15 menit. Kemudian disaring dan dicukupkan hingga volume 50 mL sehingga didapatkan ekstrak cair.

Penentuan kandungan antioksidan total dengan metode ppm

Pembuatan kurva kalibrasi larutan standar asam askorbat^[11]

Dibuat larutan standar asam askorbat dengan variasi konsentrasi (5, 10, 15, 20, 25, 30) mg/L. Dimasukkan sebanyak 1 mL larutan standar asam askorbat ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan 2 mL akuades, 1 mL larutan FeCl_3 0,1 % dan 1 mL orto-fenantrolin 0,1 %. Setelah itu didiamkan larutan selama 20 menit dan diukur absorban pada panjang gelombang 510 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Digunakan larutan blanko yaitu 3 mL akuades, 1 mL FeCl_3 0,1 % dan 1 mL orto-

fenantrolin 0,1 %. Selanjutnya dibuat kurva kalibrasi standar asam askorbat.

Penentuan kandungan antioksidan total dalam sampel^[11]

Ekstrak dari sampel dipipet sebanyak 1 mL lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan sampai tanda batas. Selanjutnya larutan ekstrak yang telah diencerkan dipipet 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ke dalam tabung reaksi ditambahkan akuades sebanyak 2 mL, 1 mL $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,1% dan 1 mL orto-fenantrolin 0,1%. Setelah itu larutan diinkubasi selama 20 menit dan diukur absorban pada panjang gelombang 510 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Digunakan larutan blanko yaitu 3 mL akuades, 1 mL FeCl_3 0,1 % dan 1 mL orto-fenantrolin 0,1 %. Dilakukan secara triplo.

Validasi metode

Penentuan nilai linieritas, LoD dan LoQ

Nilai linieritas, LoD dan LoQ ditentukan dari kurva kalibrasi standar asam askorbat.

Penentuan standar deviasi relatif (SDR)

Cara kerja sama dengan penentuan kandungan antioksidan dalam sampel seperti di atas, hanya disini dilakukan pengulangan hingga 7x. Semua data dirata-ratakan kemudian ditentukan persinggungan pada setiap titik dari rata-rata. Nilai SDR:

$$\text{SDR} = \frac{\text{SD}}{\bar{x}} \times 100\%$$

dimana, SDR adalah standar deviasi relatif, SD adalah standar deviasi, dan \bar{x} adalah konsentrasi sampel.

Penentuan perolehan kembali (%)

Cara kerja sama dengan penentuan kandungan antioksidan dalam sampel seperti di atas. Hanya disini ditambah dengan pengukuran kandungan antioksidan dalam larutan sampel ditambah larutan standar asam askorbat dengan konsentrasi 5,2 mg/L.

Dilakukan pengukuran hingga 5x pengulangan.

$$\% \text{ perolehan kembali} = \frac{[\text{sampel} + \text{standar}] - [\text{sampel}]}{[\text{standar}]} \times 100$$

Hasil dan Diskusi

Validasi metode MPM

Linieritas

Linieritas ditentukan dari kurva kalibrasi standar asam askorbat. Kurva kalibrasi standar diperoleh dengan cara memplotkan nilai absorban yang diukur pada panjang gelombang 510 nm dengan konsentrasi larutan standar asam askorbat sehingga diperoleh persamaan garis linier yaitu $y = a + bx$, seperti yang dapat dilihat pada Gambar 1.

Persamaan regresi yang diperoleh adalah $y = 0,0290x - 0,0166$. Nilai koefisien determinasi (R^2) = 0,9991 dan koefisien korelasi (r) = 0,9995. Linieritas dapat dilihat dari nilai koefisien korelasi dan koefisien determinasi yang mendekati 1. Berdasarkan nilai tersebut dapat dinyatakan bahwa metode MPM ini memiliki linieritas yang baik sehingga dapat digunakan

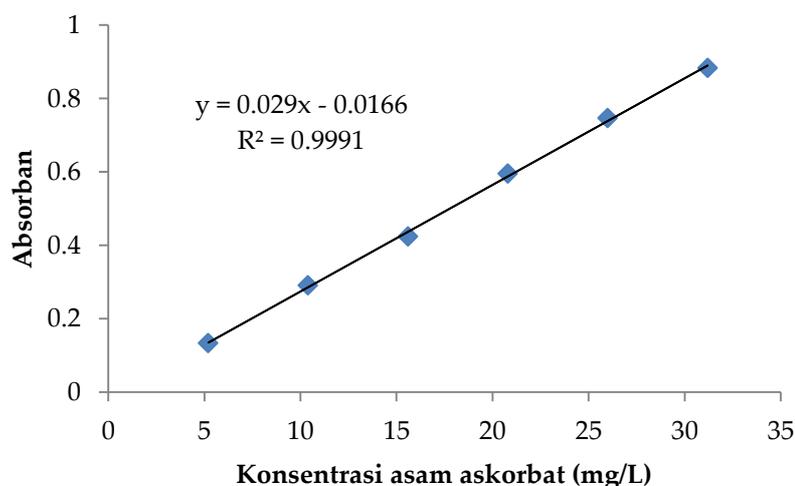
sebagai kurva kalibrasi standar untuk penentuan kandungan antioksidan total dalam sampel.

Nilai LoD dan LoQ

Sensitifitas merupakan hal yang penting untuk melihat konsentrasi minimum yang dapat diukur terhadap suatu metode analitik yang digunakan. Batas deteksi (LoD) dan batas kuantifikasi (LoQ) adalah parameter umum yang digunakan untuk membandingkan sensitifitas suatu metode analisis yang telah dikembangkan. Pada penelitian ini didapatkan nilai LoD yaitu 0,96 mg/L, yang menyatakan batas terendah konsentrasi antioksidan yang dapat dianalisis dengan metode MPM. Tetapi nilai tersebut bukan angka kuantitatif yang tepat dikarenakan LoD belum dikuantifikasi secara presisi dan akurasi. Nilai LoQ yang didapatkan yaitu 3,20 mg/L, menyatakan konsentrasi antioksidan terkecil yang dapat dianalisis dengan metode MPM yang memenuhi persyaratan presisi dan akurasi.

Standar deviasi relatif (SDR)

Pada validasi suatu metode, standar deviasi relatif digunakan untuk mengetahui ketepatan ulang metode yang digunakan dan dinyatakan dalam SDR (%), dengan batas-batas ketelitian yang telah ditentukan.



Gambar 1. Kurva kalibrasi standar asam askorbat.

Tabel 1. Nilai SDR infusa selada hijau hidroponik dan konvensional

	Hidroponik	Konvensional
SD	0,03	0,04
CV _{Horwitz} (%)	8,04	7,44
SDR (%)	2,02	1,44

Tabel 2. Nilai perolehan kembali selada hijau hidroponik dan konvensional

Selada hijau	Konsentrasi rata-rata sampel (mg/L)	Konsentrasi standar (mg/L)	Konsentrasi rata-rata sampel + standar (mg/L)	Perolehan kembali (%)
Hidroponik	8,54	5,2	13,94	103,89
Konvensional	14,92	5,2	20,07	99,02

Nilai SDR untuk presisi pengulangan berada pada rentang setengah atau dua pertiga kali nilai teoritis yang didapatkan dari fungsi Horwitz. Pengulangan metode dikategorikan baik apabila $SDR < 0,67 CV_{Horwitz}$. Untuk melihat nilai SDR pada infusa selada hijau hidroponik dan konvensional dengan metode MPM dilakukan 7x ulang pengukuran. Nilai SDR dapat dilihat pada Tabel 1 di atas.

Nilai SDR untuk infusa selada hijau hidroponik dan konvensional yang didapatkan adalah sebesar 2,02% dan 1,44% dengan nilai 0,67 $CV_{Horwitz}$ sebesar 8,04% dan 7,44%, secara berturut-turut. Hasil tersebut menunjukkan bahwa nilai SDR berada pada rentang ketelitian yang baik menurut literatur serta lebih kecil dari nilai 0,67 $CV_{Horwitz}$. Nilai SDR ini memenuhi persyaratan nilai SDR yang diperbolehkan untuk analisis yaitu kecil dari 6%^[12]. Nilai SDR rata-rata metode MPM yang didapatkan pada beberapa penelitian sebelumnya antara lain pada beberapa sampel herbal 3,13 %^[11], sampel buah 2,63 %^[10] dan sampel sayur 2,65 %^[9].

Perolehan Kembali (%)

Akurasi digunakan untuk melihat ketepatan hasil dari analisis yang telah dilakukan dan

dinyatakan dalam perolehan kembali (%). Hasil tersebut akan menunjukkan ada atau tidaknya penyimpangan pada hasil analisis dari suatu metode. Nilai perolehan kembali dapat dilihat pada Tabel 2 di atas.

Perolehan kembali untuk infusa selada hijau hidroponik dan konvensional secara berturut-turut yaitu 103,89% dan 99,02%. Nilai perolehan kembali ini memenuhi persyaratan nilai perolehan kembali yang diperbolehkan untuk analisis yaitu sebesar 90 – 108 %^[12]. Nilai perolehan kembali rata-rata metode MPM yang didapatkan pada beberapa penelitian sebelumnya antara lain pada beberapa sampel herbal 98,6 %^[11] sampel buah 97,08 %^[10] dan sampel sayur 99,43 %^[9].

Berdasarkan nilai linieritas, LoD dan LoQ, SDR dan perolehan kembali, dapat dinyatakan bahwa metode MPM ini valid untuk penentuan kandungan antioksidan total dalam sampel selada hijau konvensional dan hidroponik. Oleh karena itu, metode ini digunakan untuk membandingkan kandungan antioksidan dalam kedua sampel tersebut.

Tabel 3. Kandungan antioksidan total pada selada hijau

Sampel	Kandungan antioksidan (mg AA/g FW \pm SD)	
	Hidroponik	Konvensional
1	2,37 \pm 0,12	3,02 \pm 0,09
2	1,83 \pm 0,17	2,62 \pm 0,06
3	1,36 \pm 0,11	1,51 \pm 0,10
4	3,69 \pm 0,31	2,28 \pm 0,34
5	1,23 \pm 0,07	2,63 \pm 0,18
6	1,40 \pm 0,06	3,32 \pm 0,25
7	1,32 \pm 0,19	2,58 \pm 0,21
8	1,85 \pm 0,02	2,37 \pm 0,10
9	1,51 \pm 0,13	3,94 \pm 0,25
10	2,17 \pm 0,10	2,56 \pm 0,06
Rata-rata	1,67 \pm 0,40	2,68 \pm 0,65

Penentuan antioksidan total dengan metode MPM

Kandungan antioksidan total pada infusa selada hijau hidroponik dan konvensional menggunakan metode MPM dilakukan secara triplo agar hasil yang didapatkan lebih teliti dan akurat. Hasil yang diperoleh dinyatakan dalam satuan mg asam askorbat per gram berat sampel segar (mg AA/ g FW) (Tabel 3).

Nilai rata-rata kandungan antioksidan total pada infusa selada hijau hidroponik dan konvensional yaitu 1,67 \pm 0,40 mg AA/g FW dan 2,68 \pm 0,65 mg AA/g FW. Didapatkan kandungan antioksidan total pada infusa selada hijau yang ditanam secara konvensional lebih tinggi daripada hidroponik. Zapata-Vahos *et al* menentukan kandungan antioksidan selada hijau dan selada merah konvensional dan hidroponik dengan menggunakan metode DPPH. Didapatkan hasil kandungan antioksidan selada hijau dan merah konvensional lebih tinggi daripada selada hijau dan merah hidroponik, yang diuji dengan menggunakan metode DPPH^[6]. Hasil yang sama didapatkan oleh Lei *et al* yang menentukan kandungan antioksidan dengan

menggunakan metode ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), dimana diperoleh kandungan antioksidan pada selada konvensional yaitu sebesar 17,48 μ mol TE/g, FW dan selada hidroponik yaitu 12,38 TE/g FW^[7].

Hal ini dapat terjadi karena pemberian nutrisi pada tanaman hidroponik tidak semaksimal dengan nutrisi alami pada tanah, pupuk, serta peran mikroba yang ada pada tanaman konvensional. Nutrisi pada tanaman hidroponik yang biasa digunakan yaitu AB mix. Nutrisi AB mix dibuat dari bahan-bahan kimia sintetis yang mengandung unsur mikro (Mn, Cu, Fe, Mo, Zn, dan B) dan makro (C, H, O, N, P, K, Ca, Mg, dan S) kemudian dicampurkan sesuai kebutuhan tanaman. Nutrisi pada tanaman konvensional dapat berupa pupuk organik dan anorganik yang berperan dalam menyediakan unsur hara tambahan untuk tanaman. Media tanam yang digunakan juga dapat mempengaruhi hasil produksi dan kualitas tanaman. Media tanam berfungsi sebagai tempat melekatnya akar, penyokong bagi tanaman dan sebagai perantara dari nutrisi yang diberikan.

t-Test: Two-Sample Assuming Equal Variances		
	Konvensional	Hidroponik
Mean	2,683	1,671111111
Variance	0,41869	0,163586111
Observations	10	9
Pooled Variance	0,298641111	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	17	
t Stat	4,029976234	
P(T<=t) one-tail	0,000434456	
t Critical one-tail	1,739606726	
P(T<=t) two-tail	0,000868912	
t Critical two-tail	2,109815578	

Gambar 2. Data hasil uji t-Test.

Media tanam yang biasa digunakan pada tanaman hidroponik yaitu *rockwool*. *Rockwool* terbuat dari gabungan batu bara, batu kapur, dan batu *basalt* yang diproses dengan suhu tinggi sehingga membentuk serat-serat. Proses pembuatan *rockwool* yang melibatkan suhu tinggi membuatnya steril dari mikroorganisme patogen, hama ataupun benih gulma^[13]. Pada tanaman konvensional media tanam yang digunakan adalah tanah, dimana terdapat mikroba (*nitrobacter sp.*) dan organisme tanah (cacing) yang dapat menguraikan unsur hara serta membentuk struktur tanah. *Nitrobacter sp.* merupakan bakteri nitrifikasi yang dapat mengubah amonium menjadi nitrit dan kemudian mengubah nitrit menjadi nitrat. Nitrat sangat diperlukan tanaman sebagai sumber nutrisi. Selanjutnya, karena adanya perbedaan perlakuan atau faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder suatu tumbuhan termasuk kandungan antioksidannya.

Uji statistik t-Test bertujuan untuk membandingkan nilai rata-rata pada dua kelompok^[14]. Berdasarkan Gambar 2, didapatkan data bahwa nilai t hitung = 4,02 lebih besar daripada t tabel = 2,10. Dengan demikian, maka dapat dikatakan bahwa rata-rata kandungan antioksidan total pada infusa selada hijau hidroponik dan konvensional berbeda nyata.

Kesimpulan

Berdasarkan nilai linieritas, LoD dan LoQ, SDR dan perolehan kembali yang didapatkan pada penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa metode MPM ini valid untuk penentuan kandungan antioksidan total dalam infusa selada hijau konvensional dan hidroponik. Kandungan antioksidan total tertinggi terdapat pada infusa selada hijau konvensional yaitu $2,68 \pm 0,65$ mg AA/g FW sedangkan untuk infusa selada hijau hidroponik yaitu $1,67 \pm 0,40$ mg AA/g FW. Berdasarkan uji t, dapat disimpulkan bahwa kandungan antioksidan pada infusa selada hijau konvensional dan hidroponik, berbeda nyata.

Daftar Pustaka

- Guo, H., Yuan, Q., Fu, Y., Liu, W., Su, Y. H., Liu, H., Wu, C. Y., *et al.*, Extraction Optimization and Effects of Extraction Methods on The Chemical Structures and Antioxidant Activities of Polysaccharides from Snow Chrysanthemum (*Coreopsis tinctoria*). *Polymers (Basel)*, **11(2)**: 1–21 (2019).
- Nurhasnawati, H., Sundu, R., Sapri., Supriningrum, R., Kuspradini, H. & Arung, E. T., Antioxidant Activity, Total Phenolic and Flavonoid Content of Several Indigenous Species of Ferns in East Kalimantan, Indonesia. *Biodiversitas*, **20(2)**: 576–580 (2019).

3. Yefrida., Ulfaningsih, M. & Loekman, U., Validasi Metoda Penentuan Antioksidan Total (dihitung sebagai asam sitrat) dalam Sampel Jeruk secara Spektrofotometri dengan menggunakan Oksidator FeCl₃ dan Pengompleks Orto-fenantrolin. *J. Ris. Kim.*, **7(2)**: 186–193 (2014).
4. Moelyono, M. W., Rochjana, A. U. H., Diantini, A., Mus, I., Sumiwi, S. A., Iskandar, Y. & Susilawati, Y., Aktivitas Antioksidan Daun Iler *Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br. *J. Farm. Indones.*, **8(1)**: 271–276 (2016).
5. Masduki, A., Hidroponik sebagai Sarana Pemanfaatan Lahan Sempit di Dusun Randubelang, Bangunharjo, Sewon, Bantul. *J. Pemberdaya.*, **1(2)**: 185–192 (2017).
6. Zapata-Vahos, I. C., Rojas-Rodas, F., David, D., Gutierrez-Monsalve, J. A. & Castro-Restrepo, D., Comparison of Antioxidant Contents of Green and Red Leaf Lettuce Cultivated in Hydroponic Systems in Greenhouses and Conventional Soil Cultivation. *Rev. Fac. Nac. Agron. Medellin*, **73(1)**: 9077–9088 (2020).
7. Lei, C. & Engeseth, N. J., Comparison of Growth Characteristics, Functional Qualities, and Texture of Hydroponically Grown and Soil-grown Lettuce. *LWT*, **150**: 111931 (2021).
8. Strzemeski, M., Dresler, S., Sowa, I., Czubacka, A., Agacka-Mołodoch, M., Płachno, B. J., Granica, S., *et al.*, The impact of Different Cultivation Systems on The Content of Selected Secondary Metabolites and Antioxidant Activity of *Carlina Acaulis* Plant Material. *Molecules*, **25(1)**: 1–14 (2020).
9. Yefrida., Suyani, H., Aziz, H. & Efdi, M., Comparison of Iron Reduction Methods on The Determination of Antioxidants Content in Vegetables Sample. *Orient. J. Chem.*, **34(5)**: 2418–2424 (2018).
10. Yefrida., Suryani, H., Alif, A., Azis, H. & Efdi, M., Modification of Phenanthroline Method to Determine Antioxidant Content in Tropical Fruits Methanolic Extract. *Res. J. Chem. Environ.*, **22(4)**: 28–35 (2018).
11. Yefrida, Y., Suyani, H., Aziz, H. & Efdi, M., Validasi Metode MPM untuk Penentuan Kandungan Antioksidan dalam Sampel Herbal serta Perbandingannya dengan Metode PM, FRAP dan DPPH. *J. Ris. Kim.*, **11(1)**: 24–34 (2020).
12. Vishalli., Kaur, R., Raina, K. K. & Dharamvir, K., Investigation on Single Walled Carbon Nanotube Thin Films Deposited by Langmuir Blodgett Method. in *AIP Conference Proceedings*, **1661**: 1–38 (2015).
13. Warjoto, R. E., Barus, T. & Mulyawan, J., Pengaruh Media Tanam Hidroponik terhadap Pertumbuhan Bayam (*Amaranthus sp.*) dan Selada (*Lactuca sativa*). *J. Penelit. Pertan. Terap.*, **20(2)**: 118–125 (2020).
14. Mishra, P., Singh, U., Pandey, C., Mishra, P. & Pandey, G., Application of Student's t-Test, Analysis of Variance, and Covariance. *Ann. Card. Anaesth.*, **22(4)**: 407 (2019).