

# Pangan Fungsional Berkhasiat Antioksidan

Buku ini berisi tentang definisi radikal bebas, kerusakan-kerusakan yang disebabkan, mekanisme proteksi tubuh terhadap radikal bebas, dan strategi penanggulangan radikal bebas yang bersumber dari pangan fungsional. Buku ini juga memuat kelompok-kelompok pangan fungsional dilihat dari sumber dan manfaatnya bagi penanganan radikal bebas. Juga tidak luput dibahas adalah pengaruh pangan terhadap epigenetika, yaitu modulasi *upstream* protein-protein sebagai akibat pangan yang dikonsumsi. Pengerangan memberikan pengaruh terhadap kualitas pangan fungsional, sehingga materi ini pun tidak luput dibahas.



**Anton Rahmadi** adalah dosen di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia. Gelar PhD diperoleh pada tahun 2013 dari Fakultas Kedokteran, University of Western Sydney, Australia dengan penghargaan *Best Presenter in Session* pada PhD Annual Research Forum 2012. Sebelumnya, ia dianugerahi dengan M.Sc dari University of New South Wales, Australia di bidang Ilmu dan Teknologi Pangan pada tahun 2008 dengan High Distinction dalam Research Project. Sarjana Teknologi

Pertanian diselesaikannya di Institut Pertanian Bogor, Indonesia dengan Cum Laude dan mendapat penghargaan sebagai Finalis Mahasiswa Teladan tahun 2001. Saat ini ia adalah Ketua Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI) cabang Kalimantan Timur. Pada tahun 2016, h-index-nya 4 dan i10-indeks-nya 3 dengan total sitasi lebih dari 90. Minat penelitiannya saat ini adalah pangan fungsional, antioksidan dan penanganan pascapanen dari produk olahan lokal.



**Bohari Yusuf**, lahir di Bantaeng, Sulawesi-Selatan, 5 November 1966, menyelesaikan pendidikan S1 di Jurusan Kimia Universitas Hasanuddin lulus tahun 1990 bidang Kimia Analisis Pangan, kemudian melanjutkan pendidikan S2 di Jurusan Kimia Universitas Gadjah Mada lulus tahun 1996 dan gelar doktor diraih dari Jurusan Kimia dan Mikrobiologi Air pada Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) UMR Université de Pau et des Pays de l'Adour, Perancis, lulus tahun 2001. Bidang riset yang digeluti adalah kimia analitik baik analisis pangan maupun analisis lingkungan, khususnya yang terkait dengan

pemisahan dan spesiasi kimia, dengan publikasi diberbagai jurnal internasional bereputasi. Selain sebagai dosen dan peneliti serta menjabat Wakil Rektor IV Universitas Mulawarman (2014-sekarang), juga pernah diperbantukan di pemerintahan diantaranya sebagai Kepala Dinas Pendidikan Kabupaten Kutai Timur (2007-2008), dan juga Staf Ahli Gubernur Kalimantan Timur (2009-2014). Di organisasi aktif sebagai Ketua Umum Himpunan Kimia Indonesia Kaltim (2011-sekarang), Ketua Umum Dewan Pendidikan Kaltim (2009-2014) dan beberapa organisasi lainnya.



Penerbit  
Mulawarman University PRESS  
Gedung LP2M Universitas Mulawarman  
Kampus Gunung Kelua, Jl. Krayan, Samarinda  
Provinsi Kalimantan Timur, INDONESIA 75123  
Telp/Fax. (0542) 747432, Email : mup@ppm.unmul.ac.id



Pangan Fungsional Berkhasiat Antioksidan



Mulawarman  
University PRESS

# PANGAN FUNGSIONAL

## Berkhasiat Antioksidan



BUKU REFERENSI  
Teknologi Pengolahan Pangan

Anton Rahmadi  
Bohari



**Mulawarman  
University PRESS**

# **PANGAN FUNGSIONAL**

## *Berkhasiat Antioksidan*



**BUKU REFERENSI**  
**Teknologi Pengolahan Pangan**

**Anton Rahmadi  
Bohari**

# Pangan Fungsional Berkhasiat Antioksidan

Penulis : Anton Rahmadi  
Bohari

Editor : Tiyandri Bayu Laksmono

Pemeriksa tulisan : Miftakur Rohmah  
(*Proof Reader*)

Edisi : April 2018

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang.

Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apapun tanpa izin tertulis dari penerbit.

Isi di luar tanggung jawab percetakan.

Rahmadi, Anton dan Bohari. (eds). 2018. *Pangan Fungsional Berkhasiat Antioksidan*. Mulawarman University Press. Samarinda



**Mulawarman  
University PRESS**

Penerbit

Mulawarman University PRESS

Gedung LP2M Universitas Mulawarman

Jl. Krayan, Kampus Gunung Kelua

Samarinda – Kalimantan Timur – Indonesia 75123

Telp/Fax (0541) 747432, Email : [mup@lppm.unmul.ac.id](mailto:mup@lppm.unmul.ac.id)

# Kata Pengantar

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Dengan nama Allah yang Maha Pengasih dan Penyayang. Segala Puji bagi Allah Subhanahu wa Ta'ala, Tuhan Semesta Alam. Shâlawat serta salam kepada Nabiullah Muhammad Shâllallahu 'alaihi Wasallam, keluarga, dan pengikut beliau.

Alhamdulillah rabbil 'alamin, buku referensi yang ditujukan untuk memperkaya sebagian materi dalam mata kuliah Teknologi Pengolahan Pangan Fungsional berhasil dirampungkan. Buku ini disusun dalam jangka waktu yang cukup panjang, kurang lebih tiga tahun hingga dapat tersaji kepada para pembaca.

Di dalamnya, berisi tentang definisi radikal bebas, kerusakan-kerusakan yang disebabkan, mekanisme proteksi tubuh terhadap radikal bebas, dan strategi penanggulangan radikal bebas yang bersumber dari pangan fungsional. Buku ini juga memuat kelompok-kelompok pangan fungsional dilihat dari sumber dan manfaatnya bagi penanganan radikal bebas. Juga tidak luput dibahas adalah pengaruh pangan terhadap epigenetika, yaitu modulasi *upstream* protein-protein sebagai akibat pangan yang dikonsumsi. Pengeringan memberikan pengaruh terhadap kualitas pangan fungsional, Sehingga materi inipun tidak luput dibahas. Regulasi pangan fungsional dibahas secara terpisah dan cukup

mendetail dengan tujuan pembaca mengetahui aspek-aspek peraturan seputar pangan fungsional.

Ucapan terima kasih kepada rekan-rekan kolega dan mahasiswa yang telah bersama-sama menulis bab demi bab, publikasi demi publikasi, artikel demi artikel yang pada akhirnya terangkum di dalam buku ini. Ucapan yang sama juga kami sampaikan kepada keluarga, Rektor Universitas Mulawarman, dan kolega-kolega kami yang mendukung penulisan buku ini, juga kepada semua pihak yang telah berperan dalam penulisan buku ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Buku ini merupakan edisi pertama yang masih terus disempurnakan untuk diperbaiki dan diperluas di tahun-tahun mendatang. Masih banyak kekurangan yang terdapat dalam buku ini, semoga dapat dimaklumi adanya.

Akhirul kalam, semoga karya kecil ini memberikan sumbangsih pengetahuan dan menjadi amal jariyah yang mengalir bagi kita semua.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Samarinda, 01 April 2018.

Ketua Editor,

Anton Rahmadi

# Daftar Isi

Kata Pengantar .....	ii
Daftar Isi .....	iv
Daftar Tabel .....	ix
Daftar Gambar .....	x
Radikal Bebas: Mengapa Perlu Pangan Fungsional Berkhasiat Antioksidan? .....	1
Pendahuluan.....	1
Radikal Bebas.....	2
Stres Oksidatif.....	5
Kerusakan akibat Radikal Bebas .....	7
Kerusakan Sel secara keseluruhan .....	7
Kerusakan Protein dan Lipida .....	8
Kerusakan DNA.....	10
Sumber-Sumber Radikal Bebas .....	14
Produk Akhir Glikasi Protein.....	15
Mekanisme Pembentukan Radikal Bebas .....	21
Spesies Oksigen Reaktif .....	21
Spesies Nitrogen Reaktif.....	24
Radikal Lipida.....	27
Mekanisme Pertahanan Tubuh terhadap Radikal Bebas .....	27
Deaktivasi Spesies Oksigen Reaktif.....	29
Deaktivasi Superoksida.....	31
Deaktivasi Gugus Peroksinitrit.....	32
Reaksi Fenton .....	33
Nitrasi .....	34
Strategi Mengatasi Penyakit Akibat Radikal Bebas .....	35

Menjaga Ketersediaan Antioksidan dan Vitamin .....	36
Mereduksi Pembentukan Radikal Bebas .....	37
Mereduksi aktivasi NF-kB .....	38
Mereduksi sitokin pro-inflamasi .....	39
Mencegah pembentukan AGE .....	40
Merombak dan memerangkap struktur AGE .....	40
Kelompok dan Sumber Pangan Fungsional Berkhasiat Antioksidan .....	42
Vitamin .....	42
Antioksidan dari Kelompok Vitamin .....	43
Vitamin Larut Lemak .....	44
Vitamin Larut Air .....	45
Vitamin A .....	45
Labu .....	47
Minyak Sawit .....	49
Konversi Pro-Vitamin A menjadi Vitamin A .....	51
Fungsi Vitamin A dalam Penglihatan .....	52
Fungsi Vitamin A sebagai Pemelihara Sel Syaraf .....	52
Fungsi Pro-Vitamin A sebagai antioksidan .....	53
Vitamin E .....	55
Vitamin Larut Air berkhasiat Antioksidan .....	57
Asam Folat .....	57
Vitamin C .....	59
Fungsi Vitamin C sebagai antioksidan .....	60
Senyawa-Senyawa Fitokimia .....	63
Senyawa Fenolik .....	64
Tanin .....	65
Flavonoid .....	66
Buah Cempedak .....	67
Daun Senggani .....	69

Buah Naga.....	71
Cokelat.....	75
Kopi.....	76
<i>Phyllanthus niruri</i> .....	78
<i>Andrographis paniculata</i> .....	79
<i>Tinospora crispa</i> .....	79
Pangan Fungsional dan Epigenetika .....	81
Pendahuluan.....	81
Perbedaan genetika dan epigenetika.....	82
Mekanisme-mekanisme Epigenetika.....	85
Metilasi Sitosin DNA .....	86
Modifikasi Protein Histon .....	87
Dampak Metilasi Sitosin pada Faktor Kromatin.....	90
Pengaruh Pangan Fungsional terhadap Epigenetik.....	91
Bukti-Bukti Empiris Fungsi Pangan secara Epigenetik.....	95
Perubahan Fisiologis pada Kembar Identik .....	95
Obesitas .....	95
Perubahan bentuk tubuh dan kecerahan bulu pada tikus .....	97
Hubungan Epigenetik dengan Bidang Ilmu Lain .....	99
Pengeringan Produk Pangan Fungsional .....	100
Pendahuluan.....	100
Prinsip Pengeringan.....	102
Titik Kritis Proses Pengeringan .....	104
Kadar Air dan Aktivitas Air .....	104
Inaktivasi Enzim .....	105
Rehidrasi .....	106
Pengeringan Matahari dan Buatan.....	106
Model Laju Pengeringan.....	111
Pengaruh Pengeringan pada Komponen Pangan Fungsional.....	117

Polifenol.....	117
Vitamin C .....	119
Karotenoid .....	120
Tokoferol dan Tokotrienol.....	121
Terpenoid .....	122
Regulasi Pangan Fungsional .....	124
Latar Belakang perlunya Regulasi.....	124
Klaim Khasiat Belum Terverifikasi .....	127
Kontaminasi dan Adulterasi.....	128
Penggunaan Bahan Baku Belum Dikenal.....	130
Pangan Fungsional Lokal sebagai Daya Saing Bangsa .....	135
Regulasi Pangan Fungsional di Berbagai Negara .....	136
Persyaratan untuk FFC.....	141
Contoh Klaim Pangan Fungsional dalam Kelompok FFC .....	142
Regulasi Pangan Fungsional di Indonesia .....	145
Alur Pengajuan Klaim.....	149
Klaim Kesehatan pada Makanan Impor.....	151
Teknik Analisis Senyawa dalam Pangan Fungsional Berkhasiat	
Antioksidan.....	161
Kadar ALB CPO.....	161
Derajat Keasaman (pH).....	161
Pengukuran Total Karotenoid Metode Spektrofotometri.....	162
Pengukuran Tokoferol Metode Spektrofotometri UV.....	162
Pengukuran Tokoferol Metode Spektrofotometri Fluoresensi.....	163
Viskositas .....	163
Vitamin C .....	164
Aktivitas Antioksidan DPPH .....	165
Aktivitas Antioksidan ABTS.....	166
Aktivitas Antioksidan FRAP.....	167

Total Fenolik .....	168
Total Tanin .....	169
Total Flavonoid .....	170
Uji Penerimaan dan Preferensi Panelis .....	170
Uji Aktivitas Antimikroba .....	171
Uji Bioavailabilitas Tokoferol .....	172
Uji Bioavailabilitas Retinol .....	173
Prinsip .....	174
Prosedur Kerja (Semi Mikro) .....	174
Standar untuk Faktor Koreksi .....	175
Uji Toksisitas .....	176
Persiapan Analisis Metode HPLC .....	180
Ekstraksi dengan Pelarut .....	180
Kandungan Beta-Karoten Metode HPLC .....	181
Kandungan alfa-tokoferol Metode HPLC.....	182
Pembuatan Larutan Induk dan Kurva Standar $\alpha$ -tokoferol .....	182
Analisa $\alpha$ -tokoferol Metode HPLC .....	183
Spiking Sampel untuk Konfirmasi Metode HPLC .....	184
Kandungan Asam Organik Volatil Metode GC.....	184
Kandungan Asam Organik Metode HPLC .....	185
Daftar Pustaka .....	187

# Daftar Tabel

Tabel 1. Jenis-jenis spesies oksigen dan nitrogen reaktif .....	3
Tabel 2. Beberapa tanaman berkhasiat antioksidan dan mekanisme kerjanya.....	36
Tabel 3. Kandungan vitamin A dalam pangan .....	47
Tabel 4. Kandungan tokoferol dan tokotrienol pada minyak sawit merah .....	56
Tabel 5. Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan pada <i>A. integer</i> .....	69
Tabel 6. Hasil rerata sifat kimia daun senggani segar dan bubuk daun senggani .....	71
Tabel 7. Kandungan zat gizi buah naga merah per 100 gram.....	71
Tabel 8. Kandungan zat antioksidan buah naga .....	74
Tabel 9. Peran Nutrisi Epigenetik Dalam Proses Psikologi dan Patologi. ....	94
Tabel 10. Laju pengeringan beberapa bahan baku herbal dengan model Lewis dan Page.....	114
Tabel 11. Konsentrasi komponen gingerol analit dari jahe .....	119
Tabel 12. Pengaruh interaksi suhu dan waktu pengeringan terhadap vitamin C dan fenol pada kulit buah bengalun .....	120
Tabel 13. Contoh klaim dan pangan yang dapat digunakan sebagai media suplementasi atau fortifikasi.....	125
Tabel 14. Perbandingan penggunaan tanaman liar yang berasal dari hutan belantara dan tanaman hasil budidaya .....	131
Tabel 15. Contoh tanaman bahan baku pangan fungsional dan potensi bahayanya .....	132
Tabel 16. Standar FOSHU.....	138
Tabel 17. Makanan untuk Kesehatan Tertentu (FOSHU) Produk Pangan Disetujui 2011 .....	139
Tabel 18. Pengenalan Pangan dengan Klaim Fungsional (FFC) dan Karakteristik Makanan Kesehatan .....	152
Tabel 19. Klaim fungsional bahan gizi dalam kelompok FFC .....	154
Tabel 20. Tabel penentuan vitamin A.....	176
Tabel 21. Data uji toksisitas terhadap <i>Artemia salina</i> Leach.....	179

# Daftar Gambar

Gambar 1.	Beberapa hubungan spesies oksigen dan nitrogen reaktif .....	5
Gambar 2.	Mekanisme regulasi stress oksidatif .....	7
Gambar 3.	Kerusakan sel akibat stres oksidatif .....	9
Gambar 4.	Kerusakan DNS sebagai akibat dari radikal bebas .....	11
Gambar 5.	Aktivasi faktor tumor nekrosis alfa dan interleukin pro-inflamasi .....	13
Gambar 6.	Sumber-sumber stress oksidatif.....	15
Gambar 7.	Proses inflamasi sel syaraf sebagai progresi penyakit demensia .....	17
Gambar 8.	Peningkatan produksi sitokin proinflamasi dan oksida nitrit sebagai akibat dari induksi AGE.....	21
Gambar 9.	Proses pembentukan superoksida di dalam mitokondria .....	24
Gambar 10.	Proses pembentukan spesies nitrogen reaktif di dalam endotelium .....	26
Gambar 11.	Proses perubahan lipida tidak jenuh hingga terbentuk ikatan silang.....	28
Gambar 12.	Peran antioksidan dalam empat mekanisme aksi pertahanan tubuh di tingkat seluler.....	29
Gambar 13.	Deaktivasi spesies oksigen radikal menjadi air.....	30
Gambar 14.	Deaktivasi superoksida menjadi air dengan bantuan superoksida-dismutase dan katalase .....	31
Gambar 15.	Deaktivasi peroxinitrit oleh glutathione peroksidase.....	32
Gambar 16.	Deaktivasi lipida peroksida oleh glutathione peroksida .....	33
Gambar 17.	Reaksi Fenton .....	34
Gambar 18.	Proses nitrasi dengan bantuan kation $Fe^{3+}$ .....	35
Gambar 19.	Peranan vitamin dan antioksidan pangan .....	37
Gambar 20.	Tanaman labu di daerah Embalut, Tenggara Seberang dan buah Labu .....	48

Gambar 21. Minyak sawit merah dan buah sawit ( <i>Elaeis guineensis</i> ).....	50
Gambar 22. Konversi karoten menjadi retinol.....	51
Gambar 23. Peranan retinol dalam penglihatan.....	52
Gambar 24. Efek ARTA terhadap rata-rata jumlah dan panjang neurite sel syaraf .....	53
Gambar 25. Peranan beta karoten sebagai antioksidan .....	54
Gambar 26. Proses oksidasi beta karoten dan turunannya .....	55
Gambar 27. Peran penting vitamin C dalam tubuh.....	60
Gambar 28. Fungsi vitamin C sebagai antioksidan.....	61
Gambar 29. Perubahan bentuk asam askorbat dala proses oksidasi-reduksi .....	62
Gambar 30. Mekanisme donor H dari Vitamin C .....	63
Gambar 31. Proses resonansi senyawa fenolik.....	65
Gambar 32. Struktur kimia dan senyawa Tanin .....	66
Gambar 33. Sumber-sumber senyawa fitokimia.....	67
Gambar 34. Buah cempedak ( <i>Artocarpus integer</i> ) .....	68
Gambar 35. Daun senggani ( <i>Melastoma candidum</i> ).....	70
Gambar 36. Perbandingan kandungan vitamin C setiap perlakuan produk emulsi pasteurisasi segar dan penyimpanan suhu ruang selama 3 minggu.....	72
Gambar 37. Dua jenis buah naga yang umum ditanam di Indonesia .....	73
Gambar 38. Ekstrak kopi luwak dengan medium air dapat menurunkan produksi NO dan TNF- $\alpha$ .....	77
Gambar 39. Struktur Niruriflavone diisolasi dari <i>Phyllanthus niruri</i> .....	79
Gambar 40. Andrograpolid dari <i>Andrographis paniculata</i> .....	80
Gambar 41. Berberine dan Apigenin dari <i>Tinospora crispa</i> .....	80
Gambar 42. Perjalanan transkripsi, translasi, ekspresi, modifikasi, dan perombakan protein.....	84
Gambar 43. Pengaruh epigenetika dari komponen bioaktif pangan fungsional .....	85
Gambar 44. Peran metilasi dalam epigenetika .....	87
Gambar 45. Metilasi, asetilasi, dan fosforilasi histon .....	88
Gambar 46. Pengaruh HAT, HDAC, dan glukokortikoid pada asetilasi hormon tiroid .....	89

Gambar 47. Dampak asetilasi histon yang diinduksi oleh pangan.	90
Gambar 48. Perubahan struktur kromatin dan pengaruhnya terhadap ekspresi gen .....	91
Gambar 49. Hipotesis pengaruh pangan terhadap epigenetik dilihat dari usia manusia.....	93
Gambar 50. Dampak epigenetik pangan fungsional terhadap perubahan isiologis dan biologis .....	95
Gambar 51. Dampak epigenetik pangan fungsional terhadap obesitas .....	96
Gambar 52. Perubahan warna dan ukuran tubuh tikus Agouti sebagai pengaruh perbedaan asupan genistein.....	98
Gambar 53. Keterkaitan epigenetika dengan bidang-bidang keilmuan lain .....	99
Gambar 54. Proses evaporasi air yang terjadi selama proses pengeringan.....	104
Gambar 55. Grafik penurunan RH pada pengeringan daun pandan dengan sinar matahari.....	107
Gambar 56. Grafik perubahan suhu selama proses pengeringan daun pandan dengan sinar matahari .....	109
Gambar 57. Konsistensi suhu dari rumah pengering dalam proses pengeringan cip jahe .....	109
Gambar 58. Kelembaban Relatif Pengeringan Cip Jahe .....	110
Gambar 59. Grafik pengeringan daun pandan dengan hibrid matahari dan listrik.....	116
Gambar 60. Perbedaan komponen penyusun dari <i>Panax Gingseng</i> ekstrak dan akar segar.....	123
Gambar 61. Pangan yang dibedakan berdasarkan tujuan penggunaannya .....	137
Gambar 62. Proses pengajuan klaim kesehatan .....	150
Gambar 63. Alur pengujian toksisitas .....	178

# Radikal Bebas: Mengapa Perlu Pangan Fungsional Berkhasiat Antioksidan?

**Anton Rahmadi dan Miftakhur Rohmah**

\*Sebagian tulisan ini dikembangkan dari:

Rahmadi dan Zahid (2010)

## Pendahuluan

Bahan pangan berkhasiat antioksidan telah dianggap sebagai bagian dari pangan fungsional yang memiliki arti penting bagi kesehatan manusia. Kelompok pangan yang kaya akan antioksidan merupakan pangan bernilai tinggi dan banyak dikonsumsi, utamanya oleh populasi masyarakat yang menyadari pentingnya hidup sehat, beraktivitas tinggi, awet muda atau menyembuhkan penyakit degeneratif tertentu. Sebagai bagian dari dimensi fisik dan biologis, maka perlu pengkajian yang lebih mendalam tentang peranan pangan fungsional berkhasiat antioksidan dalam beberapa bab ke depan. Di bab ini akan dijelaskan tentang radikal bebas, kondisi stres oksidatif, akibat dari stres oksidatif bagi kesehatan, mekanisme pembentukan radikal bebas dan mekanisme pertahanan tubuh terhadap keberadaan radikal bebas. Peranan pangan berkhasiat antioksidan, sumber-

sumbernya, dan mekanisme proteksi terhadap radikal bebas dari kelompok vitamin dan polifenol akan dibahas pada bab-bab selanjutnya.

## Radikal Bebas

Di dalam struktur atom dan molekul kebanyakan senyawa biologis (organik), elektron ditemukan berpasangan dan bergerak dalam wilayah atau orbit yang telah ditentukan. Setiap orbital dapat menyimpan maksimum dua elektron yang berputar dengan arah yang berlawanan (Halliwell, 1991). Sebuah radikal bebas dapat didefinisikan sebagai spesies independen yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbitalnya. Terminologi “bebas” pada radikal adalah akibat keberadaan elektron tidak berpasangan tersebut (Halliwell, 1994). Elektron tidak berpasangan dan bersifat radikal disimbolkan sebagai • (*dot*). Dikarenakan elektron yang berpasangan cenderung lebih stabil memiliki orbital, spesies radikal pada umumnya bersifat lebih reaktif dibandingkan molekul-molekul non-radikal dalam banyak reaksi biologis. Apabila dua spesies radikal bertemu, elektron yang tidak berpasangan dapat saling bergabung membentuk ikatan kovalen atau gabungan pasangan elektron.

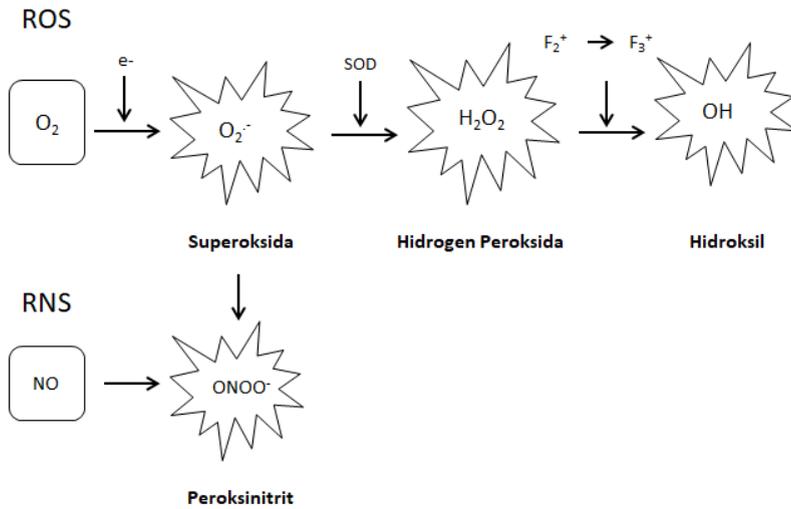
**Tabel 1. Jenis-jenis spesies oksigen dan nitrogen reaktif**

Spesies oksigen reaktif			
Radikal		Non-radikal	
Superoksida	$O_2\bullet$	Hidrogen peroksida	$H_2O_2$
Hidroksil	$OH\bullet$	Asam hipoklorit	$HOCl$
Peroksil	$RO_2\bullet$	Asam hipobromus	$HOBr$
Alkoksil	$RO_2\bullet$	Ozon	$O_3$
Hidroperoksil	$HO_2\bullet$	Singlet oksigen	$^1\Delta_g$
Spesies nitrogen reaktif			
Radikal		Non-radikal	
nitrogen monoksida	$NO\bullet$	Asam nitrat	$HNO_2$
nitrogen dioksida	$NO_2\bullet$	Kation nitroksil	$NO^+$
		Anion nitroksil	$NO^-$
		Dinitrogen tetraoksida	$N_2O_4$
		Dinitrogen trioksida	$N_2O_3$
		Peroksinitrat	$ONOO^-$
		Asam peroksinitrat	$ONOOH$
		Kation nitril	$NO_2^+$
		Alkil peroksinitrat	$ROONO$

Spesies radikal dapat bergabung dengan molekul-molekul non radikal dalam beberapa jenis reaksi. Suatu radikal dapat menyumbangkan elektron tidak berpasangannya ke molekul non radikal, atau dapat pula mengambil elektron dari molekul lain untuk membentuk ikatan kovalen. Kedua proses ini dikenali dengan istilah radikal reduktor dan oksidator. Suatu radikal dapat pula bergabung ke molekul non radikal begitu saja. Ketiga model reaksi tersebut menjadikan molekul non radikal sebagai spesies

radikal baru (Halliwell, 1991). Spesies reaktif yang seringkali ditemukan di mahluk biologis adalah dari kelompok spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species*, ROS) dan spesies nitrogen reaktif (*reactive nitrogen species*, RNS). Beberapa spesies dari kedua kelompok ini bersifat radikal dan lainnya bersifat non-radikal (Tabel 1).

Spesies oksigen reaktif dalam wujud superoksida dapat bergabung dengan senyawa nitrogen monoksida membentuk peroksinitrit yang berbahaya bagi sel. Jalur turunan (*downstream*) dari peroksinitrit diketahui merupakan salah satu penyebab utama stres oksidatif pada sel, misalnya dengan mengaktifkan faktor nuklir kappa beta (NF- $\kappa$ B). Sebagai mekanisme pertahanan tubuh terhadap spesies oksigen reaktif, super oksida dismutase (SOD) dan reaksi fenton dengan bantuan Besi II akan mereduksi superoksida menjadi gugus hidroksil radikal. Pada kelompok ROS, oksigen ( $O_2$ ) yang terdapat kelebihan elektron dan menjadi superoksida ( $O_2\bullet$ ). Superoksida direduksi menjadi  $H_2O_2$  (Hidrogen Peroksida).  $H_2O_2$  selanjutnya direduksi dengan reaksi fenton menjadi  $-OH$ , dan pada kelompok RNS, Superoksida ( $O_2\bullet$ ) ditambah NO akan menjadi  $ONOO\bullet$  (peroksi-nitrat).



**Gambar 1. Beberapa Hubungan Spesies Oksigen dan Nitrogen Reaktif**

Sumber: Codoner-Frach *et al* (2011)

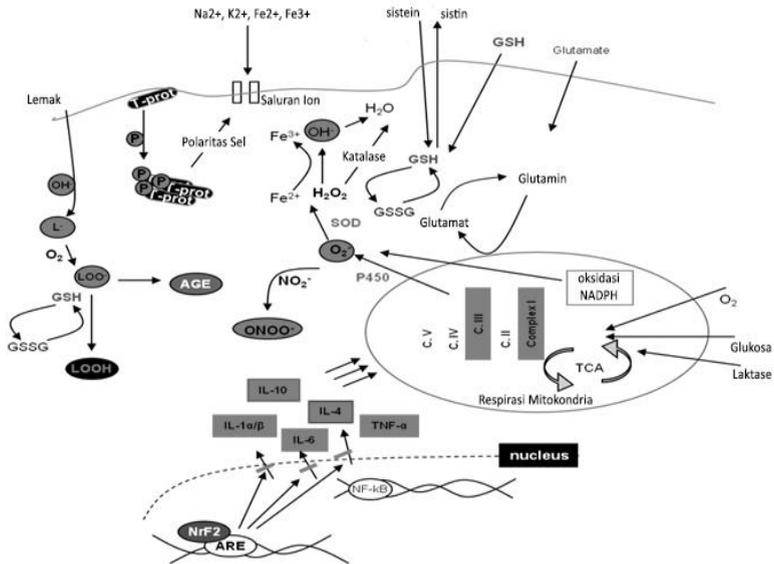
### Stres Oksidatif

Pengertian stres oksidatif mengacu pada kondisi ketidakseimbangan antara produksi spesies reaktif dan keberadaan antioksidan sebagai bentuk pertahanan tubuh. Dalam prinsipnya, stres oksidatif dapat terjadi apabila antioksidan telah habis digunakan, sementara ROS dan RNS masih ada. Beberapa sebab kondisi stres oksidatif yang terjadi adalah akibat proses mutasi genetik, yaitu pada saat enzim pertahanan tubuh yang berfungsi sebagai antioksidan seperti kompleks tembaga-seng-superoksida dismutase (CuZn-SOD), kompleks mangan-

superoksida dismutase (Mn-SOD), dan kompleks glutathione-peroksidase (GSH-PX) tidak mampu lagi mengubah ROS dan RNS yang ada di sitoplasma. Sebagai contohnya, senyawa xenobiotik dapat dimetabolisme dengan proses konjugasi dengan GSH. Apabila tubuh mengalami invasi senyawa xenobiotik dalam kadar yang tinggi, GSH akan habis terkonjugasi dan situasi stres oksidatif terjadi.

Kondisi stres oksidatif dapat pula tercipta apabila tubuh tidak memiliki cukup antioksidan yang berasal dari pangan yang dikonsumsi. Di dalam tubuh, sebagai salah satu cara komunikasi, senyawa oksida nitrit atau nitrogen monoksida (NO) diproduksi sebagai salah satu mekanisme pengantar pesan antar sel. Dalam kondisi stres oksidatif, produksi NO teramplifikasi sebagai akibat aktifnya nitrogen monoksida sintase terinduksi (*inducible nitric oxide synthase*, iNOS). Sebagai akibatnya, sel yang mengalami produksi NO berlebihan akan memproduksi senyawa pro-inflamasi yang dapat menyebabkan aktifnya jalur fagositosis sel dan kematian sel secara nekrosis maupun apoptosis. Aktivasi sel sebagai akibat kondisi stress oksidatif dapat berujung pada munculnya penyakit-penyakit degeneratif dan tanda-tanda

penuaan seperti rematik arthritis, diabetes, demensia, dan katarak (Halliwell, 2001; Rahmadi, 2011).



**Gambar 2. Mekanisme regulasi stress oksidatif di tingkat seluler**  
Sumber: Rahmadi (2013)

### Kerusakan akibat Radikal Bebas

### Kerusakan Sel secara keseluruhan

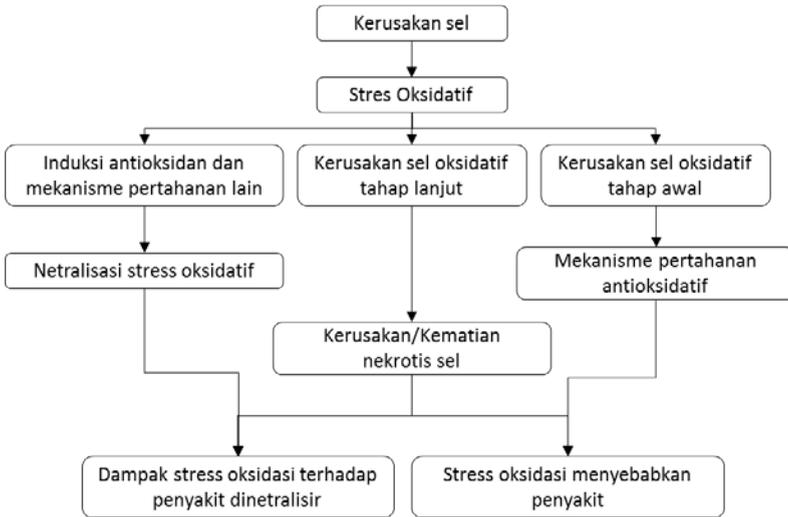
Tanda awal akibat dari stress oksidatif adalah kerusakan di tingkat seluler. Secara umum, stress oksidatif tingkat seluler dapat dikategorikan dalam tiga kelas kerusakan sel, yaitu (1) sel memiliki pertahanan yang baik karena antioksidan dari pangan yang dikonsumsi dan enzim-enzim masih mampu menetralkan stress oksidatif, (2) kerusakan sel tahap awal yang ditandai dengan

meningkatnya produksi senyawa pro-inflamasi, dan (3) kerusakan sel tahap lanjut, di mana produksi senyawa pro-inflamasi telah mengaktifkan jalur *caspase* yang berujung pada kematian sel secara nekrosis ataupun apoptosis. Kerusakan sel pada umumnya dapat diperbaiki, kecuali pada sel-sel syaraf otak yang telah terdiferensiasi sempurna. Kerusakan sel selanjutnya akan berkembang menjadi gejala penyakit yang tampak apabila terjadi secara terus menerus (Gambar 3).

### Kerusakan Protein dan Lipida

Di dalam tubuh manusia yang sehat, pada umumnya terjadi keseimbangan produksi antara ROS atau RNS dan antioksidan. Serangan ROS dapat terjadi, sekalipun pada tubuh yang sehat, dan pada umumnya terjadi pada protein dan lipida. Apabila protein atau asam amino mendapatkan serangan ROS, senyawa tersebut dapat mengalami perubahan gugus fungsionalnya. Sebagai contoh, hidroksilasi valin dan tirosin, peroksidasi protein, terciptanya gugus karbonil pada orto-tirosin. Lebih lanjut, RNS dapat menyerang asam amino tirosin dan mengubahnya menjadi nitro-tirosin. Asam-asam amino termodifikasi ini telah menjadi

biomarker dari penyakit-penyakit yang disebabkan oleh tinggi kadar senyawa pro-inflamasi (Halliwell, 2001).



**Gambar 3. Kerusakan Sel akibat Stres Oksidatif**

Sumber: Halliwell (2001)

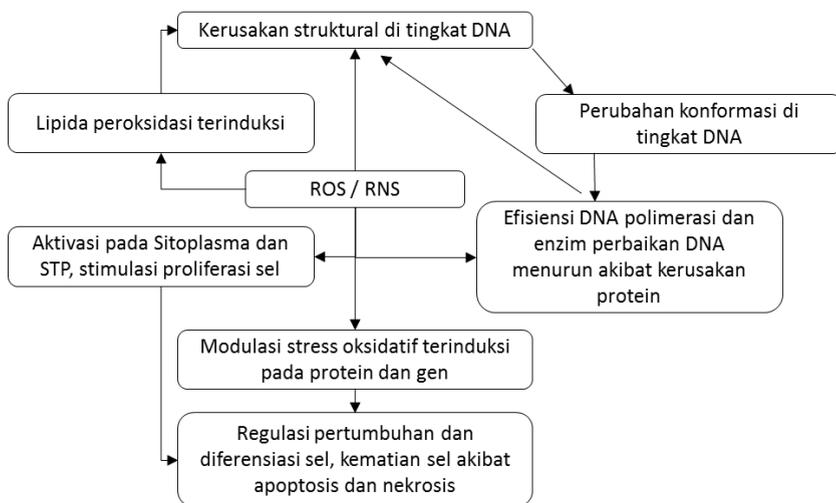
ROS dapat menyebabkan munculnya pigmen-pigmen penanda proses penuaan sebagai akibat peroksidasi lipida. Reaksi antara NO dengan oksigen terjadi pada sisi lipofilik dari membran sel dan pada lipoprotein. Keberadaan proses peroksidasi lipida dapat dideteksi dari biomarker yang diisolasi pada urin, misalnya senyawa isoprostan. Senyawa isoprostan meningkat kuantitasnya pada hewan-hewan yang diberi stres oksidatif, perokok, dan bayi prematur (Halliwell 2001).

## Kerusakan DNA

Spesies oksigen dan nitrogen reaktif (ROS dan RNS) memegang peranan penting dalam progresi kanker di dalam tubuh. ROS dan RNS telah dikenal sebagai agen karsinogenik, di mana sifat mutagenesis ROS dan RNS dapat berkontribusi dalam inisiasi sel kanker (Wiseman dan Halliwell, 1996). Induksi kanker oleh ROS dan RNS dapat terjadi dalam tiga mode, yaitu (1) perubahan struktural DNA, (2) perubahan di tingkat jalur penyandi genetik dan proses-proses di dalam sitoplasma, dan (3) modulasi aktivitas protein dan gen sebagai respons seluler terhadap stres oksidatif. ROS dapat menyebabkan perubahan atau alterasi di tingkat kromosom, sehingga mutasi di tingkat seluler dapat terjadi sebagai akibat inaktivasi alel-alel tertentu. Beberapa alel yang terinaktivasi adalah yang bertanggung jawab terhadap ekspresi protein anti-onkogen atau penghambat tumor. Akibatnya, sel kehilangan sebagian mekanisme defensif terhadap progresi mutasi di dalam sel. Hidrogen peroksida dapat berpindah dari satu sel ke sel yang lain ataupun dari satu organel ke organel lain.

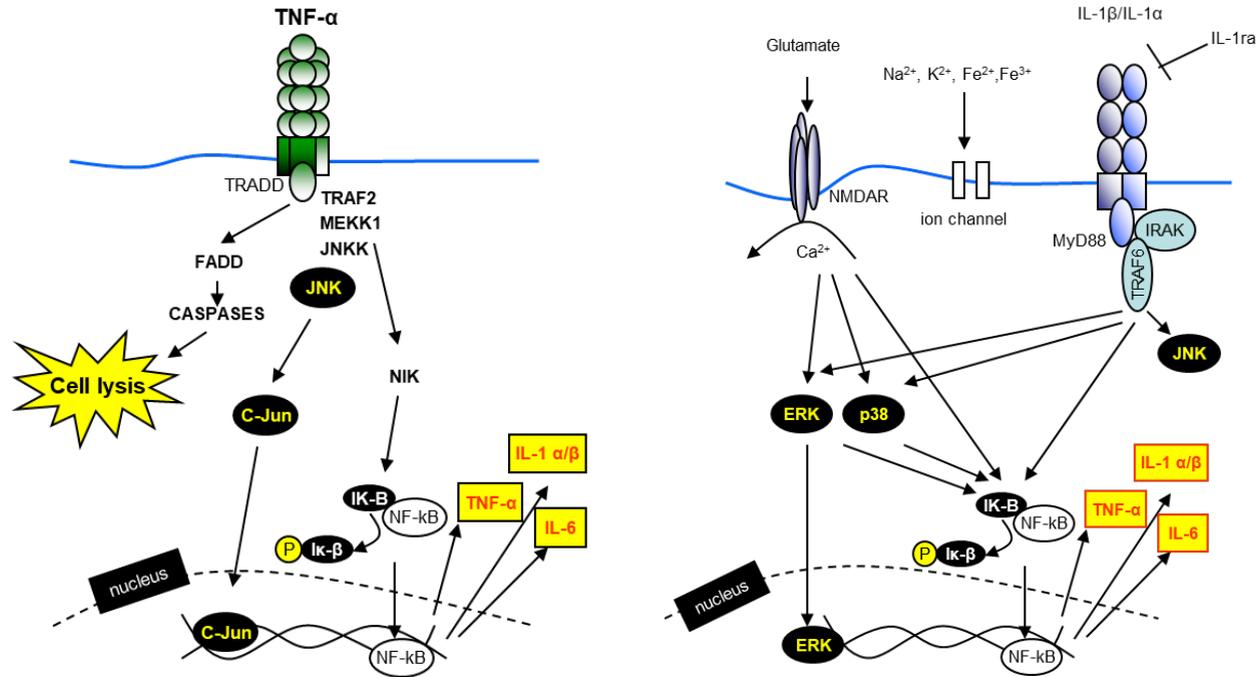
Hidrogen peroksida dikenali sebagai agen aktivasi faktor transkripsi sitoplasmik, salah satunya bernama faktor nuklir kappa

beta (NF- $\kappa$  $\beta$ ) (Wiseman dan Halliwell, 1996). Rahmadi dan Zahid (2010) menyebutkan bahwa NF- $\kappa$  $\beta$  merupakan faktor transkripsi yang secara langsung berkaitan dengan peningkatan sitokin pro-inflamasi seperti interleukin (IL-1 $\beta$  dan IL-6) dan faktor tumor nekrosis alfa (*tumor necrosis factor alpha*, TNF $\alpha$ ). Nitrosasi dari residu tirosin sebagai akibat adanya peroksinitrat (ONOO $^-$ ) dapat menyebabkan penghambatan proses fosforilasi. Hidrogen peroksida dapat menstimulasi jalur transkripsi protein C<sub>jun</sub> yang pada akhirnya akan mengaktifasi jalur kinase protein (*mitogen-activated protein kinase*, MAPK) (Wiseman dan Halliwell, 1996).



**Gambar 4. Kerusakan DNS sebagai Akibat dari Radikal Bebas**  
 Sumber Wiseman dan Halliwell (1996)

Reaksi endogenus yang dapat berkontribusi dalam kerusakan DNA adalah oksidasi, metilasi, depurinasi, dan deaminasi. Oksida nitrit atau nitrogen monoksida (NO) merupakan biomarker yang umum ditemukan dan kemudian senyawa ini dapat terderivasi menjadi  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{ONOO}^-$ ,  $\text{N}_2\text{O}_2$  and HNOs. Senyawa-senyawa turunan ini dikenal sebagai agen mutagenik yang potensial menyebabkan kerusakan DNA dari proses-proses nitrasi, nitrosilasi, dan deaminasi. Sebagai contoh, metilasi sitosin merupakan salah satu faktor penting dalam regulasi ekspresi genetik, dan banyak dibahas dalam ilmu epigenetika. Metilasi dapat menyebabkan munculnya gejala karsinogenesis. Selain RNS, ROS dapat menyebabkan kerusakan pada gugus fungsional dari basa purin dan pirimidin, utamanya disebabkan oleh serangan hidroksil. Sebenarnya kerusakan DNA sebagai akibat ROS dan RNS dapat terjadi secara alamiah dalam tingkatan yang rendah (Wiseman dan Halliwell, 1996).

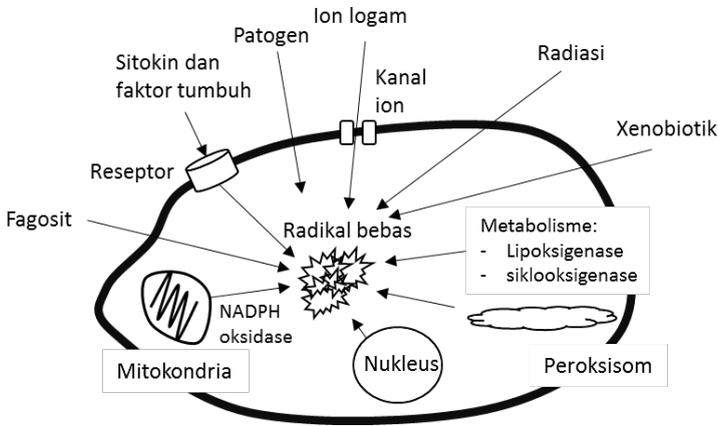


**Gambar 5. Aktivasi Faktor Tumor Nekrosis Alfa dan Interleukin Pro-Inflamasi**  
 Sumber: Rahmadi (2013)

## Sumber-Sumber Radikal Bebas

Sumber-sumber radikal bebas dari spesies oksigen dan nitrogen (ROS dan RNS) dapat terbentuk dalam dua jenis reaksi, enzimatis dan non-enzimatis. Apabila ROS dan RNS terbentuk dalam proses enzimatis, biasanya radikal bebas yang terbentuk adalah hasil dari proses respirasi, fagositosis, sintesis prostaglandin, dan sistem sitokrom P450. ROS dan RNS dapat berasal dari sumber endogenus maupun eksogenus, artinya dapat berasal dari metabolisme sel, ataupun masuk ke dalam sel dari luar. Sumber spesies oksigen dan nitrogen reaktif dari proses endogenus (gambar 6) contohnya adalah (1) hasil aktivasi sel imun, (2) inflamasi, (3) stress mental, (4) latihan fisik yang berlebihan, (5) iskemia, (6) infeksi, (7) kanker, dan (8) gejala penuaan. Sumber ROS dan NOS dari luar adalah (1) polusi udara dan air, (2) rokok, (3) alkohol, (4) logam transisi dan logam berat (misalnya: Cd, Hg, Pb, Fe, dan As), (5) konsumsi obat-obatan (siklosporin, gentamisin, takrolimus), (6) pelarut industri (pelarut cat, lem, kayu), (7) kerusakan pangan akibat proses pengolahan (produk bakaran, asap, minyak terhidrogenasi), dan (8) radiasi. ROS dan RNS dari

sumber-sumber eksternal dapat terdekomposisi dan termetabolisme menjadi radikal bebas (Pham-Huy *et al* 2008).



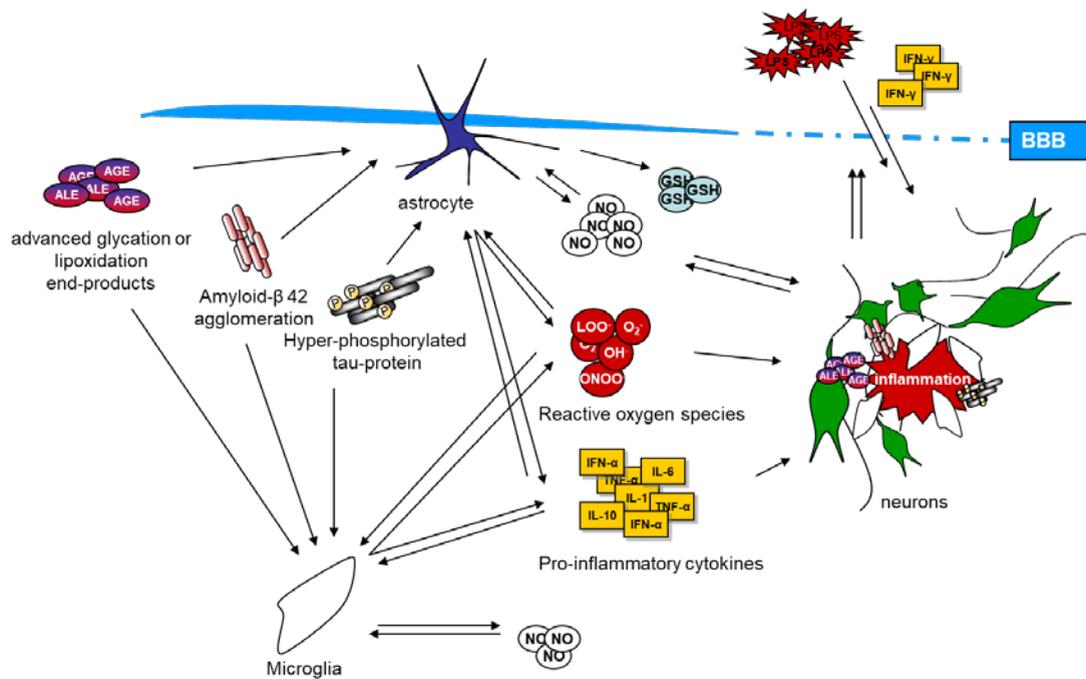
**Gambar 6. Sumber-Sumber Stress Oksidatif**

Sumber: Afonso (2007)

### Produk Akhir Glikasi Protein

Sekalipun bukan termasuk dalam definisi radikal bebas, Monnier dan Cerami (1981) mengintroduksiikan peranan produk akhir glikasi protein (*advanced glycation end-products, AGE*) sebagai bagian dari patogenesis akibat radikal bebas. Kelompok zat kimia ini secara alami diproduksi di dalam sel atau juga dapat diperoleh dari makanan (Rahmadi dan Zahid, 2010). AGE muncul sebagai suatu disiplin penelitian pangan terkait kesehatan yang relatif baru, misalnya sebagai biomarker geronto-toksin (Simm *et al*, 2007).

Beberapa patogenesis yang berhasil dibuktikan sebagai akibat dari keberadaan AGE adalah pada proses penuaan, diabetes, dan *Alzheimer's disease* (Rahmadi dan Zahid, 2010). Ikatan silang yang dimediasi oleh AGE pada gugus-gugus protein yang memiliki paruh-waktu cukup lama akan memiliki pengaruh pada penurunan vitalitas tubuh atau penuaan. Produksi AGE diketahui meningkat dalam kondisi hiperglisemik, misalnya pada penderita diabetes dan penderita disfungsi ginjal (Wolff *et al* 1991). Toksisitas dari AGE pada penderita diabetes dapat disebabkan oleh: a) interaksi dengan reseptor AGE, b) deposisi jaringan tubuh, dan c) glikasi *in-situ* (Daroux *et al* 2009). Plak beta-amiloid dan *neuro fibrillary tangles* (NFT) telah disepakati sebagai dua indikator utama dari penyakit Alzheimer. Jaringan syaraf otak akan sangat terganggu dengan adanya deposit plak beta-amiloid dan NFT (Roberson *et al* 2007). Secara imunohistokimia dengan bantuan antibodi yang spesifik, kolokalisasi AGE berhasil ditemukan di dalam NFT. Dalam kasus ini,  $\tau$ -protein yang mengalami hiperfosforilasi dapat bereaksi dengan gula untuk kemudian membentuk filamen heliks berpasangan (*paired helical filaments*, PHF) yang bersifat racun bagi tubuh (Yan *et al* 1994).



**Gambar 7. Proses Inflamasi Sel Syaraf sebagai Progresi Penyakit Demensia**

Sumber: Rahmadi *et al* (2011)

Glikasi dan glikolisasi merupakan reaksi non-enzimatis yang melalui siklus basa-Schiff dan penyusunan ulang gugus hidroksil (*Amadori re-arrangements*) yang produk akhirnya dapat mengaduksi protein, asam amino ataupun fragmen-fragmen peptida (Bao *et al* 2009). Aldehid atau gugus-keto dari gula pereduksi dapat mengaduksi gugus *alpha-amino groups* dari N-terminal atau E-amino amina seperti pada lisin (Lys), arginin (Arg), sistein (Cys) dan histidin (His). Ikatan silang (*crosslinking*) dari protein-AGE dengan dipeptida lain yang memiliki sisi bebas dalam gugus N-terminal-nya dapat terjadi utamanya pada asam amino arginin dan triptofan (Trp) (Bidasee *et al* 2004). Dalam konteks yang lebih luas, aduksi dan ikatan silang protein-AGE dapat diinduksi oleh metabolit glukosa yang bersifat aktif, seperti metilglioksal (MGO), glioksal, dan 3-deoksiglukosona (Johansen *et al* 2006). Dikarenakan stabilitasnya, AGE dan ikatan silang protein-AGE dapat menimbulkan resistansi protease terhadap peptida dan protein yang terlibat. Akibatnya, keseimbangan protein di dalam tubuh berubah, dan tentunya dapat pula menyebabkan amiloidosis (Rahmadi dan Zahid, 2010).

Rahmadi dan Zahid (2010) menjelaskan bahwa AGE sebenarnya diproduksi secara intra- dan ekstraseluler. AGE diketahui diproduksi di dalam komponen limfosit darah, hemoglobin, mitokondria, dan nukleus. (Bao *et al* 2009). Glikasi protein dapat pula terjadi pada gugus aktif dan kritis dari enzim dan protein yang menyebabkan inaktivasi kemampuan enzim tersebut (Wautier and Schmidt 2004). Glikasi ekstraseluler umumnya terjadi pada kompleks-protein yang memiliki paruh-waktu biologis yang cukup lama seperti kolagen dan plak protein  $\beta$ -amiloid (Zhao *et al* 1996). Nukleasi bergantung terhadap polimerisasi AGE  $\beta$ -amiloid yang diketahui meningkat seiring dengan peningkatan ikatan silang antar AGE  $\beta$ -amiloid (Loske *et al* 2000).

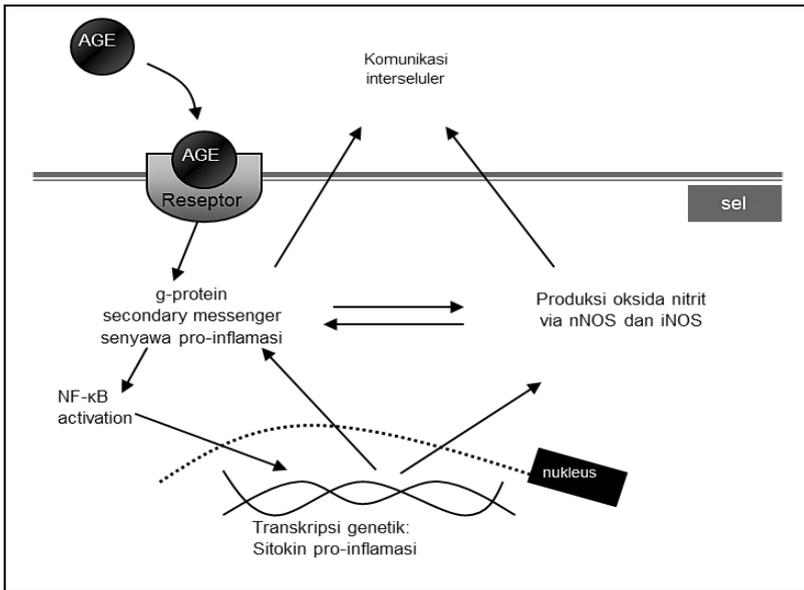
Dalam ilmu pangan, terminologi proses glikasi protein lebih dikenali dengan istilah pencoklatan, yaitu pada saat pembentukan AGE terjadi melalui reaksi Maillard yang identik dengan glikasi protein non-enzimatis dengan bantuan panas (Glenn and Stitt 2009). Produk akhir glikasi protein merupakan sebuah kelompok produk dengan keragaman senyawa yang luas dan tidak memiliki ciri khusus melainkan semuanya merupakan turunan dari glikasi

protein dan aduksi gula. Kelompok zat kimia ini secara alami diproduksi di dalam sel atau juga dapat diperoleh dari makanan (Rahmadi dan Zahid, 2010).

Dalam pengolahan pangan, proses glikasi protein sebenarnya merupakan proses yang dikehendaki. Pembentukan aroma, warna, dan perubahan tekstur bahan pangan terjadi melalui peristiwa ini (Henle 2005). Akan tetapi, pencoklatan enzimatis dan non enzimatis yang berlebihan dalam produk pangan telah diketahui dapat merusak kualitas fungsional produk pangan, menurunkan konsentrasi asam amino esensial dan ketercernaan produk pangan (Rahmadi dan Zahid, 2010). Pembentukan AGE terjadi secara proposional terhadap waktu dan suhu pemasakan. Pengeringan dengan udara panas meningkatkan konsentrasi AGE hingga 10 dan 100 kali lebih banyak dibandingkan produk asalnya (Uribarri *et al* 2010). Produk kaya protein, susu UHT dan susu kental, dapat mengandung hingga 150 mg/kg pirlin, sebagai akibat pembentukan AGE dari asam amino lisin (Henle 2003).

AGE yang sesuai akan diikat oleh reseptor (RAGE) yang menginduksi produksi sitokin. Kadar sitokin pro-inflamasi dan

produksi oksida nitrit akan meningkat dengan mekanisme induksi ataupun melalui jalur transkripsi genetik yang dipengaruhi oleh aktivasi NF- $\kappa$ B. Induksi produksi oksida nitrit dapat dilakukan oleh AGE seperti yang dijelaskan oleh Rahmadi dan Zahid (2010) pada Gambar 8.



**Gambar 8. Peningkatan produksi sitokin proinflamasi dan oksida nitrit sebagai akibat dari induksi AGE.**

## Mekanisme Pembentukan Radikal Bebas

### Spesies Oksigen Reaktif

Spesies oksigen reaktif (ROS) adalah frase yang digunakan untuk menggambarkan berbagai molekul dan radikal bebas yang berasal dari molekul oksigen. Terdapat dua alasan mengapa radikal bebas dapat ditemukan dari molekul oksigen, yaitu (1) sifat

pengikatan dua elektron oksigen oleh molekul lain yang sama membutuhkan energi yang cukup besar dan (2) kemungkinan terjadinya eksitasi dan perubahan arah putaran salah satu elektron dari molekul oksigen (Turrens, 2003).

Molekul oksigen dalam kondisi tunggal mengandung dua elektron tidak berpasangan di kulit terluar. Senyawa radikal dari oksigen terbentuk karena secara kimia dua elektron tunggal pada oksigen memiliki putaran yang sama, sehingga oksigen hanya dapat bereaksi dengan satu elektron pada suatu waktu. Dalam kemampuan pengikatan secara kimia, dua elektron oksigen yang berpasangan dengan dua elektron dari molekul lain yang sama membutuhkan energi yang lebih besar. Kemungkinan ini menyebabkan selalu ada gugus yang bermuatan negatif dari molekul oksigen yang siap untuk berikatan dengan molekul lainnya.

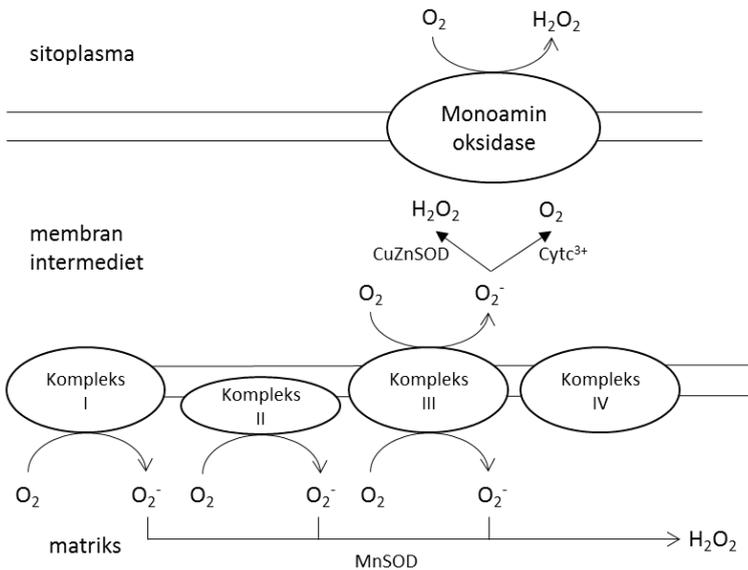
Di sisi lain, eksitasi salah satu dari kedua elektron di sisi terluar molekul oksigen dapat pula terjadi. Apabila salah elektron mengalami eksitasi, maka arah putarannya pun mengalami perubahan, sehingga mudah berpasangan dengan molekul lain. Kondisi ini yang disebut sebagai oksigen singlet yang mudah

bereaksi. Reduksi molekul oksigen oleh satu elektron akan memunculkan kondisi *intermediate*. Produk yang lazim ditemukan dalam kondisi ini adalah anion superoksida ( $O_2^{\bullet-}$ ), yang dikenal sebagai prekursor dari sebagian basa oksida radikal dan sebagai mediator biologis proses oksidatif (Liochev dan Fridovich, 1999).

Di dalam tubuh, anion superoksida dapat dinetralisir dengan proses yang secara spesifik disebut sebagai dismutase, yaitu reduksi anion superoksida menjadi hidrogen peroksida oleh enzim superoksida dismutase (SOD). Akan tetapi, proses yang terjadi dapat pula berupa hidrolisis parsial menjadi hidroksil radikal ( $OH^{\bullet}$ ). Hidroksil radikal merupakan salah satu spesies radikal biologis terkuat. Selain itu, superoksida dapat pula bereaksi dengan radikal lain termasuk oksida nitrit ( $NO^{\bullet}$ ) yang kemudian membentuk peroksinitrit ( $ONOO^{\bullet}$ ), pro-oksidan kuat yang berbahaya bagi tubuh (Beckman dan Koppenol, 1996). Turunan pro-oksidan dari kelompok  $NO^{\bullet}$  selanjutnya disebut spesies nitrogen reaktif (RNS) (Rahmadi *et al*, 2011).

Mitochondria merupakan bagian dari sel yang berfungsi sebagai pabrik energi seluler (Gambar 9). Proses pembentukan energi pada umumnya melibatkan oksigen, sehingga secara

alamiah mitokondria menjadi tempat terbentuknya ROS berupa superoksida dan hidrogen peroksida. Beberapa kompleks dalam mitokondria yang mungkin menjadi lokus pembentukan ROS adalah kompleks I oleh NADH dehidrogenase, kompleks II oleh suksinat dehidrogenase, kompleks III oleh ubiquinol-sitokrom reduktase, gliserolfosfat dehidrogenase, dan mono-amino oksidase (Turrens, 2003).



**Gambar 9. Proses Pembentukan Superoksida di Dalam Mitokondria**

### Spesies Nitrogen Reaktif

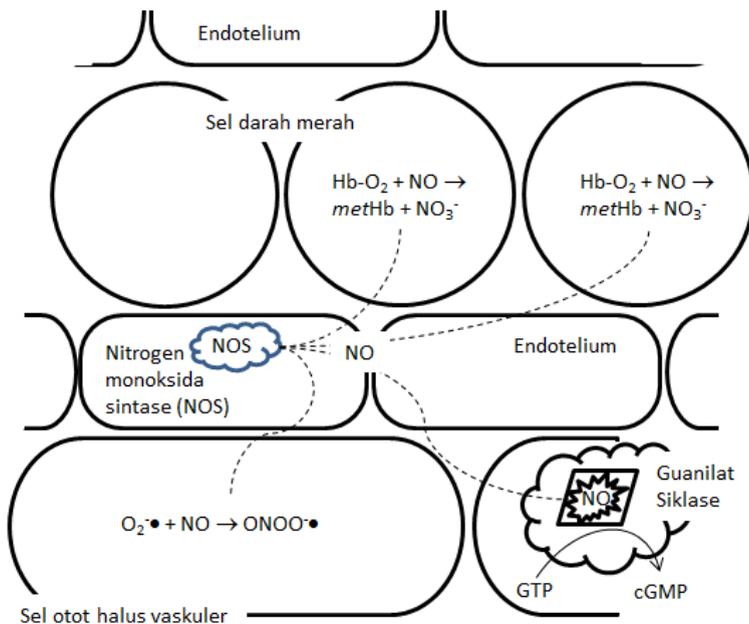
Spesies nitrogen reaktif (RNS) merupakan kelompok radikal bebas di dalam tubuh yang mengandung gugus nitrogen. Termasuk

di dalam kelompok ini adalah oksida nitrit ( $\text{NO}\bullet$ ) yang kemudian membentuk nitrit ( $\text{NO}_2\text{-}\bullet$ ) dan peroxynitrit ( $\text{ONOO}\bullet$ ). Di dalam tubuh, oksida nitrit sebenarnya berfungsi sebagai pemberi pesan (*messenger*) dalam proses komunikasi antar sel. Akan tetapi pada kondisi produksi yang berlebihan, sel mengalami stress oksidatif yang berakibat pada terbentuknya turunan-turunan RNS yang lebih reaktif dan berbahaya.

Sebagai contoh, terdapat tiga kompleks yang serupa (*isoform*) di dalam sel yang memproduksi oksida nitrit, yaitu oksida nitrit sintase konstitutif (*constitutive nitric oxide synthase*, cNOS) pada sel endotelium, neuronal oksida nitrit sintase (*neuronal nitric oxide synthase*, nNOS) pada sel syaraf, dan oksida nitrit sintase terinduksi (*inducible nitric oxide synthase*, iNOS) pada mikroba dan sel makrofag. Dalam kondisi merespons stimulan dan induser yang diberikan, sel akan merombak L-arginin menjadi molekul sederhana ( $\text{NO}$ ) yang kemudian berubah menjadi  $\text{NO}_2^-$  dan  $\text{NO}_3^-$  (Morris, 1994).

Oksida nitrit memiliki peranan penting dalam pembentukan senyawa-senyawa pro-inflamasi, dikarenakan kemampuan senyawa ini dalam menginduksi jalur turunan (*downstream*

*pathway*) yang berujung pada proses inflamasi (Rahmadi dan Zahid, 2010). Jalur turunan ini akan menyebabkan peningkatan produksi senyawa pro-inflamasi yang melibatkan protein, sitokin, kemokin, enzim, lipida, and antibodi (Heneka and O'Banion 2007). Selanjutnya, sitokin pro-inflamasi seperti interleukin-1-beta (IL-1 $\beta$ ), interleukin-6 (IL-6), dan *tumor necrosis factor-alfa* (TNF- $\alpha$ ) akan meregenerasi produksi radikal bebas lain seperti superoksida oksida nitrit di sel-sel imun (Kjær *et al* 2009).



**Gambar 10. Proses Pembentukan Spesies Nitrogen Reaktif di Dalam Endothelium**

Sumber: Beckman dan Koppenol (1996)

## Radikal Lipida

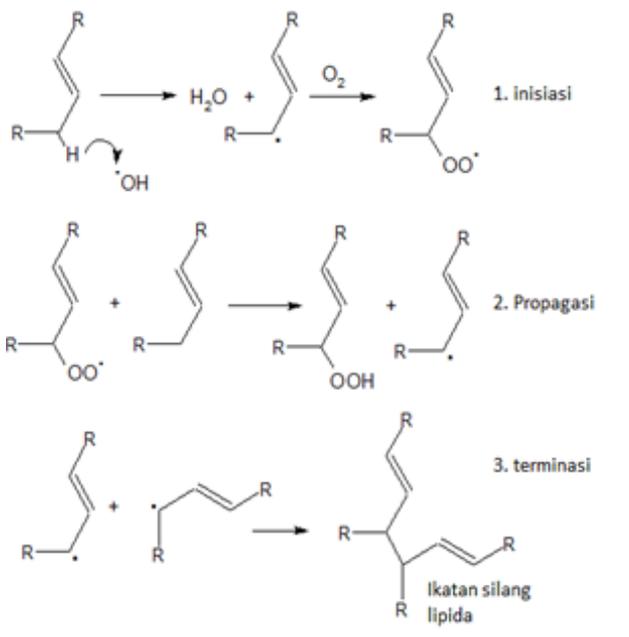
Di dalam tubuh, senyawa radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan yang disebabkan oleh terjadinya peroksidasi, perusakan DNA, mRNA, dan protein (Chung *et al*, 2010). Akibat jangka panjang dari stres oksidatif dapat diamati pada penyakit-penyakit degeneratif seperti demensia, diabetes, artritis, rematik, katarak, maupun kanker.

Proses terjadinya kerusakan oksidatif dapat dimulai dari peroksidasi lipid, yaitu lepasnya gugus H dari rantai lipida dan bergabungnya superoksida ke gugus tersebut. Beberapa lipida selanjutnya dapat saling berikatan silang (*crosslinkage*). Selain itu, lipida tidak jenuh boleh jadi mendapat serangan dari gugus hidroksil radikal dan membentuk radikal lipida yang kemudian menjadi radikal lipida peroksil. Dalam propagasi lanjutan, radikal lipida peroksil membentuk lipid peroksida yang berbahaya bagi tubuh (Gambar 11).

## Mekanisme Pertahanan Tubuh terhadap Radikal Bebas

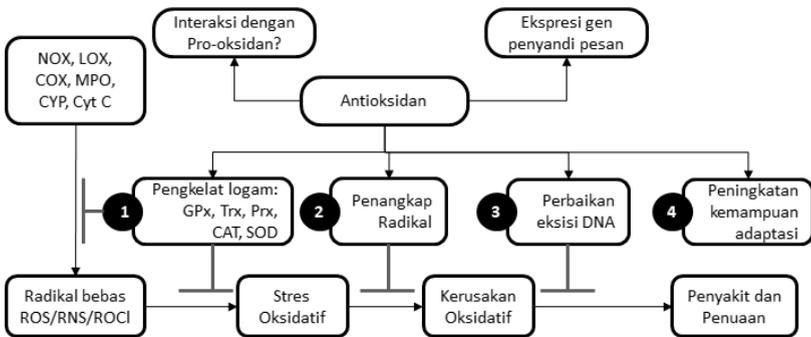
Antioksidan secara umum berperan dalam empat jalur mekanisme pertahanan tubuh terhadap radikal bebas, yaitu: (1) sebagai pengekelat logam-logam sehingga keseimbangan oksidasi-

reduksi dari radikal bebas terhambat, (2) sebagai penangkap radikal bebas (*radical scavenger*) yang mencegah terjadinya oksidasi molekul-molekul dalam sel, (3) memperbaiki kerusakan DNA dan mRNA yang menyebabkan terjadinya mutasi sel ataupun kerusakan oksidatif di tingkat seluler, dan (4) memperbaiki kemampuan adaptatif dalam memperlambat akibat yang ditimbulkan oleh penyakit-penyakit degeneratif (Gambar 12).



**Gambar 11. Proses Perubahan Lipida Tidak Jenuh hingga terbentuk Ikatan Silang**

Secara khusus, mekanisme aksi antioksidan dari kelompok vitamin adalah (1) sebagai ko-faktor dari enzim yang berperan dalam keseimbangan reaksi redoks di dalam tubuh, (2) secara aktif menangkap radikal bebas, (3) membantu proses perbaikan komponen-komponen seluler, (4) sebagai pencegah terjadinya aktivasi logam pro-oksidan, dan (5) membantu dalam proses nitrasi.

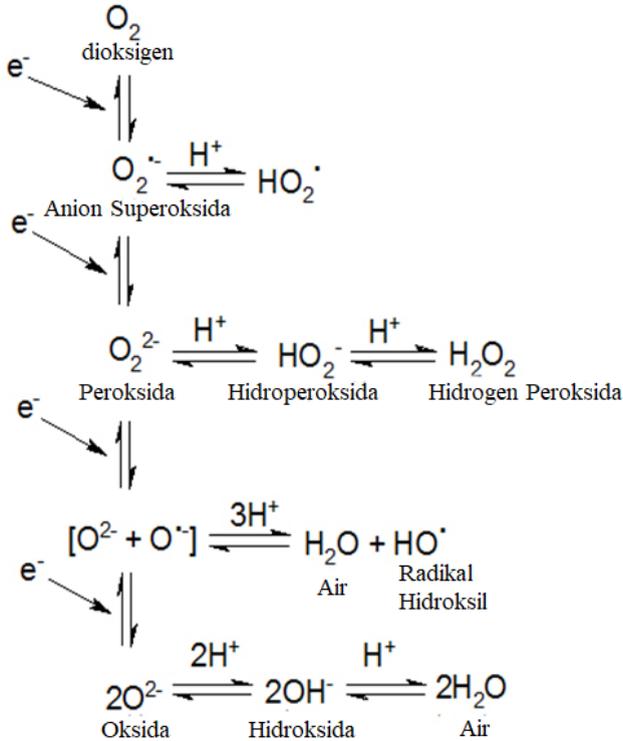


**Gambar 12. Peran Antioksidan dalam Empat Mekanisme Aksi Pertahanan Tubuh di Tingkat Seluler**

### Deaktivasi Spesies Oksigen Reaktif

Spesies oksigen reaktif dapat terbentuk dari dua molekul oksigen yang bermuatan negatif sebagai hasil antara dari proses pembentukan energi di dalam mitrokhondria. Senyawa yang

terbentuk disebut sebagai anion superoksida yang bersifat radikal ( $O_2^{\bullet-}$ ).



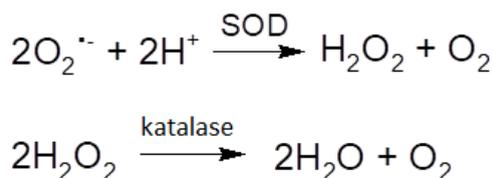
**Gambar 13. Deaktivasi Spesies Oksigen Radikal menjadi Air**

Dalam kondisi normal untuk mencapai keseimbangan, sel akan mengubah anion superoksida menjadi hidroperoksida ( $HO_2^-$ ) yang kemudian menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dengan menyumbangkan kation  $H^+$ . Akan tetapi, apabila anion superoksida mendapat tambahan elektron, senyawa tersebut akan menjadi

peroksida ( $O_2^{2-}$ ) yang kemudian dinetralisir menjadi hidrogen peroksida. Pada kondisi peroksida yang terpisah menjadi oksida ( $O^{2-}$ ) dan singlet oksigen ( $O^{\bullet}$ ) akibat tambahan satu elektron, sel memerlukan tiga kation  $H^+$  untuk menetralsirnya dan produknya menjadi air ditambah dengan senyawa hidroksil radikal ( $HO^{\bullet}$ ). Oksida dan singlet oksigen dapat terdisosiasi menjadi dua senyawa oksida apabila mendapat tambahan elektron yang dinetralisir oleh tubuh menjadi hidrogen peroksida dan air.

### Deaktivasi Superoksida

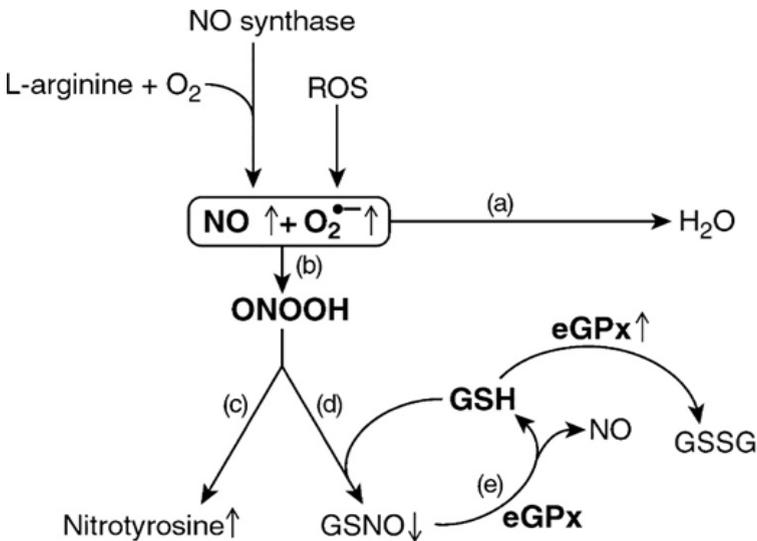
Anion superoksida dapat secara langsung dinetralisasi oleh tubuh dengan penambahan dua kation  $H^+$  menjadi hidrogen peroksida dan oksigen dengan bantuan enzim superoksida dismutase. Selanjutnya, hidrogen peroksida dinetralisasi menjadi air dan oksigen dengan bantuan enzim katalase (Gambar 14).



**Gambar 14. Deaktivasi Superoksida menjadi Air dengan Bantuan Superoksida-dismutase dan Katalase**

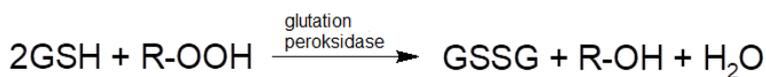
## Deaktivasi Gugus Peroksinitrit

Gugus peroksinitrit terbentuk sebagai akibat dari superoksida yang bereaksi dengan nitrogen monoksida. Di dalam tubuh, peroksinitrit dinetralisir keberadaannya dengan bantuan enzim glutation (GSH) menjadi S-nitroglutation (GSNO) yang kemudian dengan bantuan enzim glutation-peroksidase (eGPx) diubah kembali menjadi GSH dan nitrogen monoksida. Peroksinitrit dapat dideteksi keberadaannya secara tidak langsung melalui metabolitnya yaitu nitrotirosin. Senyawa nitrotirosin ini juga berfungsi sebagai penanda (*marker*) kerusakan seluler yang didapat dari cairan di sitoplasma maupun di luar sel (Gambar 15).



Gambar 15. Deaktivasi Peroksinitrit oleh Glutathione Peroksidase

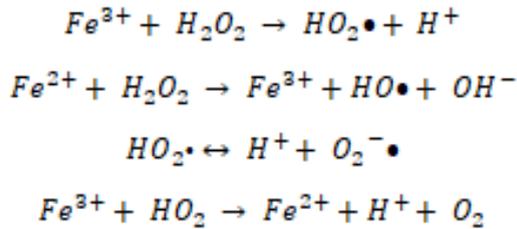
Deaktivasi gugus peroksida pada lipida, karbohidrat, maupun protein dapat pula dilakukan oleh sel dengan bantuan enzim glutathion peroksidase (GSH-PX). Enzim ini akan menstimulasi pembentukan gugus glutathion disulfida, air, dan gugus R-OH.



**Gambar 16. Deaktivasi Lipida Peroksida oleh Glutathione Peroksida**

### Reaksi Fenton

Reaksi Fenton yang dicetuskan pada tahun 1894 menjelaskan bahwa hidrogen peroksida dan hidroperoksida dapat direduksi oleh sel menjadi berbagai spesies oksigen reaktif yang lain, di mana besi III ( $\text{Fe}^{3+}$ ) dapat menyumbangkan kationnya dan tereduksi menjadi besi II ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Sebaliknya, besi II ( $\text{Fe}^{2+}$ ) dapat teroksidasi menjadi besi III ( $\text{Fe}^{3+}$ ) karena adanya hidrogen peroksida menjadi besi III ( $\text{Fe}^{3+}$ ) ditambah hidroksil radikal dan anion hidroksil.



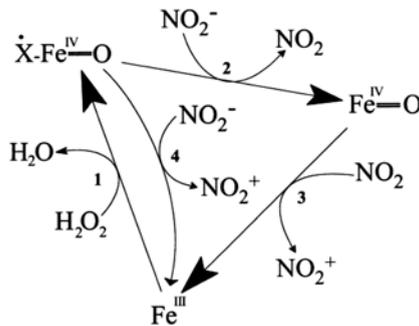
**Gambar 17. Reaksi Fenton**

Sumber: Araujo *et al* (2011)

## Nitrasi

Mekanisme nitrasi melibatkan peroksidase yang oksidasi nitritnya ( $NO_2^-$ ) dimediasi menjadi nitrogen dioksida radikal ( $NO_2\bullet$ ) atau kation nitronium ( $NO_2^+$ ). Contoh enzim peroksidase pada mamalia yang berperan dalam proses ini adalah myeloperoksidase. Langkah awal proses nitrasi dimulai dari oksidasi besi III ( $Fe^{3+}$ ) menjadi besi IV ( $Fe^{4+}$ ) yang kemudian berikatan dengan protein atau radikal porpirin dan membentuk kompleks senyawa I ( $Fe^4-X\bullet$ ). Kompleks senyawa I dapat direduksi menjadi kompleks senyawa II ( $Fe^4-O$ ) oleh nitrit ( $NO_2^-$ ) yang menjadi nitrogen dioksida non-radikal ( $NO_2$ ). Kompleks senyawa II dapat berubah kembali menjadi besi III ( $Fe^{3+}$ ) dengan bantuan nitrogen dioksida ( $NO_2$ ) yang turut berubah menjadi kation nitronium ( $NO_2^+$ ).

Selain tiga langkah nitrasi tersebut, kation nitronium ( $\text{NO}_2^+$ ) dapat langsung terbentuk dari nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) sebagai akibat reduksi kompleks senyawa I menjadi besi III ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Nitrogen dioksida non-reaktif ( $\text{NO}_2$ ) dan nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) dapat terlibat dalam proses nitrasi senyawa-senyawa fenolik dengan proses terminasi radikal ataupun reaksi substitusi elektrofilik (Gambar 18).



**Gambar 18. Proses nitrasi dengan bantuan kation  $\text{Fe}^{3+}$**   
 Sumber: Patel *et al* (1999)

### Strategi Mengatasi Penyakit Akibat Radikal Bebas

Mekanisme pencegahan dan penurunan komplikasi penyakit degeneratif yang ditimbulkan akibat radikal bebas terdiri dari: a) menjaga ketersediaan antioksidan dan vitamin di dalam tubuh utamanya tiamin (vitamin B1), piridoksal-5-fosfat (koenzim vitamin B6),  $\beta$ -alanin (vitamin B5), dan karnosin; b) mereduksi pembentukan radikal bebas; c) mereduksi aktivasi NF-kB; d)

mereduksi sitokin pro-inflamasi; dan e) merombak dan memerangkap struktur AGE.

**Tabel 2. Beberapa Tanaman Berkhasiat Antioksidan dan Mekanisme Kerjanya**

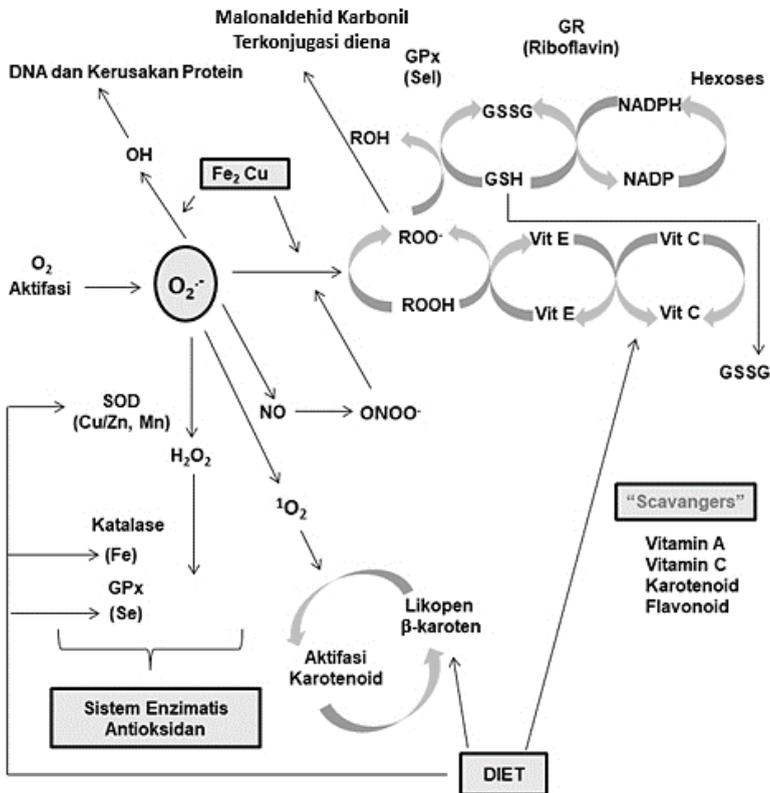
Tanaman	Cara kerja
<i>Camellia sinensis</i> dan <i>Illex paraguariensis</i>	(1) menghambat produksi AGE, (2) menurunkan radikal bebas
<i>Psidium guava</i>	(1) menghambat produksi AGE, (2) merombak dan memerangkap gugus reaktif dari AGE
<i>Loranthus parasiticus</i>	(1) menurunkan radikal bebas
<i>Andrographis paniculata</i>	(1) menurunkan sitokin pro-inflamasi, (2) mereduksi aktivasi NF- $\kappa$ B
<i>Ganoderma</i>	(1) Mereduksi aktivasi NF- $\kappa$ B, (2) mengurangi senyawa aloksan

Sumber: Rahmadi dan Zahid (2010).

### Menjaga Ketersediaan Antioksidan dan Vitamin

Penggunaan aldol-reduktase pada penderita diabetes dapat mencegah pembentukan 3-deoksiglukoson dari fruktosa yang berperan sebagai induktor proses glikasi (Monnier, 2003). Karnosin,  $\beta$ -alanin, dan L-histidin merupakan senyawa asam amino bermanfaat mencegah glikasi yang bertanggung jawab dalam proses penuaan. Karnosin berfungsi sebagai pengkelat logam (*metal chelator*) yang dapat mencegah ikatan kompleks ion logam bervalensi dua yang berperan mempercepat oksidasi dan

meningkatkan konsentrasi produk reaktif hasil glikosilasi (Rahmadi dan Zahid, 2010).



**Gambar 19. Peranan Vitamin dan Antioksidan Pangan**

Sumber: Codoner-Frach *et al* (2011)

### Mereduksi Pembentukan Radikal Bebas

Penyebab inflamasi yang paling utama adalah stres oksidatif yang disebabkan oleh faktor genetik, lingkungan, gaya hidup, pengobatan, infeksi dan penuaan (Rahmadi dan Zahid, 2010).

*Loranthus parasiticus* yang merupakan sumber herbal yang mengandung total fenolat paling banyak, mencapai 29,67 mg GAE/g, diantara 50 sumber herbal yang diteliti (Gan *et al* 2010). Komponen aktif fenoliknya memiliki aktifitas mengurangi oksidasi dan mengikat radikal bebas selain dapat menghambat proses peradangan. Kelas tumbuhan beri-berian juga menyimpan potensi yang sangat besar dalam mengatasi penyakit-penyakit degeneratif akibat pembentukan radikal bebas (Seeram *et al* 2006).

### Mereduksi aktivasi NF-κB

*Faktor nuklir kappa beta (nuclear factor kappa-beta, NF-κB)* merupakan kelompok P-protein (didominasi oleh P50 dan P65) yang memiliki arti penting dalam transkripsi genetik sistem pertahanan sel (Matsuda *et al* 2007). Salah satu yang diregulasi oleh aktivasi NF-κB adalah transkripsi sitokin pro-inflamasi. Dalam proses aktivasi NF-κB, Inhibitor kappa beta (IκB) akan terfosforilasi dan NF-κB dalam bentuk dimer akan lepas dari sitoplasma menuju ke nukelus (Salminen *et al* 2008). Andrografolida sebagai komponen fenolik terbanyak dalam sambiloto (*Andrographis paniculata*) mampu membentuk aduksi kovalen dengan sistein

tereduksi dari protein P60, yang memicu inaktivasi NF- $\kappa$ B. Ganoderma diketahui dapat mempengaruhi ekspresi NF- $\kappa$ B dan apoptosis dari sel syaraf pada tikus. Gugus polisakarida dari *Ganoderma lucidum* (GI-PS) juga memiliki efek penghambatan senyawa aloksan, sebuah senyawa yang menginduksi aktifitas NF- $\kappa$ B, sehingga melindungi kerusakan sel pankreas (Xia *et al* 2004).

### Mereduksi sitokin pro-inflamasi

Jalur turunan stres oksidatif banyak melibatkan sitokin pro-inflamasi, sehingga upaya penurunan produksi senyawa-senyawa ini akan sangat membantu proses pengobatan gejala-gejala penyakit akibat stres oksidatif (Rahmadi dan Zahid, 2010). Diantara semua sitokin pro-inflamasi, interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ ), interleukin 6 (IL-6) and *factor tumor nekrosis alfa* (TNF- $\alpha$ ) merupakan penanda (*marker*) utama dalam berbagai kasus inflamasi, utamanya di bagian otak (Heneka and O'Banion 2007). IL-6 secara khusus, dapat berdifusi membentuk plak yang kemudian berkembang sebagai penyebab penyakit Alzheimer (Luterman *et al* 2000). *Andrographis paniculata* mampu menurunkan senyawa-senyawa pro-inflamasi

dan kemotaksis, seperti sitokin dan oksida nitrat, melalui fosforilasi protein Akt dan inaktivasi jalur protein ERK (Sheeja *et al* 2006).

### Mencegah pembentukan AGE

Vitamin C dan kelompok vitamin B (tiamin, piridoksal-5-fosfat,  $\beta$ -alanin) dan karnosin dipercaya dapat mencegah proses pembentukan AGE. Penghambatan AGE dengan menggunakan vitamin dan nutrien menunjukkan bahwa vitamin C dapat mengurangi hingga 50% glikasi protein serum yang berdampak baik terhadap pencegahan komplikasi diabetes akibat reaksi glikasi (Riviere *et al* 2010). Kelompok vitamin B lain seperti derivat vitamin B1 (tiamin pirofosfat) dan vitamin B6 (piridoksamin) juga memiliki manfaat mencegah AGE dengan menghambat reaksi glikasi yang mengurangi kadar gula darah yang berpotensi terhadap diabetes melitus (Rahmadi dan Zahid, 2010).

### Merombak dan memerangkap struktur AGE

Terdapat bahan-bahan kimia yang mampu merombak struktur ikatan silang antar AGE sehingga menjadi kurang berbahaya (Rahmadi dan Zahid, 2010). Senyawa-senyawa kimia ini

diantaranya aminoguanidin dan 4,5-dimetil-3-fenaciltiazolium klorida (DPTC) (Ulrich and Cerami 2001), dan fenaciltiazolium bromida (PTB) (Monnier 2003). Akan tetapi, aminoguanidin ternyata bersifat toksik terhadap tubuh dalam konsentrasi yang tinggi, sehingga tidak dapat digunakan sebagai alternatif terapi (Peyroux and Sternberg 2006). Cara kerja senyawa-senyawa kimia ini adalah merusak struktur alfa-dikarbonil pada ikatan silang AGE. Senyawa kimia lain seperti piridoksiamina mampu berperan sebagai penjebak AGE, memerangkapnya dan membuat AGE menjadi tidak aktif dalam membentuk ikatan-ikatan silang (Monnier 2003). Kemampuan merusak struktur ikatan silang AGE juga didapatkan dari bahan pangan segar seperti sayuran dan buah-buahan.

# Kelompok dan Sumber Pangan Fungsional Berkhasiat Antioksidan

**Ilma Yanti, Siti Ma'rifatul Jannah, Kartika Sari, Ilyas, Isak Budi  
Setionugroho, Masitah, Yuliana Sabarina Lewar, Nikmatul Khoiriyah,  
dan Anton Rahmadi**

## Vitamin

Vitamin adalah substansi kompleks yang membantu tubuh dalam meregulasi fungsi-fungsinya untuk tumbuh, berkembang, dan menjaga fungsi faalinya. Beberapa vitamin berperan sebagai koenzim yang membantu fungsi-fungsi enzim di dalam tubuh. Vitamin pada umumnya tidak mengandung kalori, sehingga tidak berfungsi sebagai penyedia energi bagi tubuh. Vitamin bersifat esensial karena diperlukan untuk metabolisme yang spesifik dan umumnya dipenuhi dari bahan pangan, kecuali vitamin D yang dapat diproduksi oleh tubuh melalui sintesis kalsium dan kolesterol. Beberapa vitamin telah berhasil diproduksi secara sintetik dan memiliki peranan yang sama dengan vitamin yang bersumber dari alam.

Vitamin dapat kehilangan sifat fungsionalnya sebagai akibat ekspose cahaya, panas, proses oksidasi, enzim, maupun karena bahan pangan yang mengandung vitamin rusak sebagai akibat bakteri dan serangga. Oleh karena itu, pengolahan bahan baku mengandung vitamin

harus dilakukan sesuai dengan prinsip-prinsip pengolahan pangan yang baik. Tentang pengolahan bahan pangan fungsional ini dibahas dalam bab yang terpisah dalam buku ini.

Vitamin memiliki nilai asupan harian, yaitu standar kebutuhan konsumsi harian bagi kelangsungan pertumbuhan dan pemeliharaan tubuh manusia. Termasuk didalam nilai asupan ini adalah nilai asupan harian yang direkomendasikan (*daily recommended intakes individual, DRI*), dan nilai rekomendasi harian (*daily recommended values, DRV*). Vitamin dibutuhkan dalam jumlah cukup untuk pencegahan penyakit, dan cara pemenuhan terbaiknya adalah dengan mengkonsumsi beragam jenis pangan.

### Antioksidan dari Kelompok Vitamin

Peranan antioksidan dari kelompok vitamin adalah untuk memperlambat atau mencegah kerusakan sel-sel tubuh sebagai akibat eksposur senyawa-senyawa radikal bebas, baik yang datang dari konsumsi makanan kurang sehat ataupun sebagai akibat stres oksidatif ditingkat seluler. Antioksidan dari kelompok vitamin telah terbukti secara ilmiah untuk meningkatkan fungsi imun tubuh dan menurunkan risiko infeksi maupun penyakit degeneratif dan kanker. Beberapa kelompok vitamin yang dikenal mampu berfungsi sebagai antioksidan adalah dari

kelompok karotenoid, tokoferol, tokotrienol, dan asam askorbat. Vitamin maupun pro-vitamin ini dapat diperoleh dengan konsumsi buah-buahan, sayur-sayuran dan biji-bijian.

Saat ini, riset seputar fungsi vitamin sebagai antioksidan telah sangat luas dilakukan, terutama akan peranannya terhadap penghambatan spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species*, ROS). Peranannya dalam mencegah penyakit-penyakit akibat radikal bebas pada umumnya sebagai komponen yang berperan dalam penyembuhan dan pencegahan inflamasi jaringan (Burda dan Weislaw, 2001).

### Vitamin Larut Lemak

Vitamin larut lemak merupakan kelompok vitamin hidrofobik yang umumnya adalah derivat dari isoprene. Dalam proses transportasinya di dalam tubuh, vitamin larut lemak secara spesifik mampu berikatan dengan gugus lipoprotein dan protein-pengikat tertentu dari darah. Klasifikasi vitamin larut lemak yang berkhasiat antioksidan adalah dari kelompok vitamin A dan E.

Bahan pangan yang mengandung vitamin dalam konsentrasi yang tinggi dikategorikan sebagai pangan super (*superfood*), diantaranya adalah biji-bijian, beri-berian, coklat, labu, jeruk-jerukan, ikan, umbi-

umbian, kacang-kacangan, dan produk fermentasi susu seperti yogurt, keju dan kefir.

### Vitamin Larut Air

Vitamin larut air merupakan kelompok vitamin hidrofilik yang gugus aktifnya kebanyakan dari ikatan rangkap oksigen dan gugus hidroksil. Contoh paling umum dari antioksidan berbasis vitamin larut air adalah asam askorbat. Sumber vitamin C yang umum adalah buah-buahan asam seperti jeruk, nanas, stroberi dan lemon.

### Vitamin A

Vitamin A merupakan salah satu zat gizi mikro esensial yang diperlukan untuk pertumbuhan, diferensiasi sel, dan pemeliharaan. Dalam klasifikasi vitamin, vitamin A atau yang biasa disebut retinol merupakan salah satu vitamin yang larut dalam lemak atau minyak, sehingga seringkali ditemukan pada produk berbasis minyak dan lemak, seperti susu, telur, hati dan minyak hati, serta mentega (Rahmadi *et al*, 2016).

Sumber vitamin A dapat pula terbentuk dari pro-vitamin A, atau umumnya disebut sebagai karotenoid. Pada umumnya, karotenoid tersedia sebagai pewarna makanan (*food grade colorant*), misalnya beta

karoten ( $\beta$ -karoten). Selain  $\beta$ -karoten, lutein, likopen, *zeaxanthin*, *cryptoxanthin*, dan  $\alpha$ -karoten juga merupakan karotenoid penting sumber pro-vitamin A (Almatsier, 2003). Di dalam tubuh, selama masa penyerapan, karotenoid akan dikonversi menjadi retinol. Aktivitas pro-vitamin A dari  $\beta$ -karoten terjadi secara enzimatik di dalam mukosa intestinal melalui bantuan enzim dioksigenase menjadi senyawa retinal yang kemudian direduksi menjadi retinol (Groeber, 2013).

Di dalam tubuh, karoten disimpan dalam liver. Karotenoid dan turunannya seperti retinol dan asam trans-retinoat memiliki fungsi menjaga kesehatan syaraf pengelihatian dan motorik, juga berguna dalam menjaga jalinan komunikasi antar sel syaraf sendiri (Rahmadi *et al*, 2011). Aktivitas antioksidan karotenoid diperoleh dari senyawa likopen,  $\beta$ -karoten, dan lutein yang semuanya membantu proses penghambatan peroksidasi lemak dengan mekanisme peningkatan resistensi *low density lipoprotein* (LDL) dari proses oksidasi. Perlindungan oksidatif terhadap cahaya ditemukan pada proses penghambatan inflamasi sel kulit dan pembentukan katarak. Efek antioksidatif selanjutnya diperoleh dengan cara inaktivasi oksigen singlet pada sitoplasma.

Rahmadi *et al* (2016) menyebutkan bahwa vitamin A merupakan vitamin yang secara spesifik dikaitkan dengan pengelihatian. Fungsi umum vitamin A dan karotenoid adalah untuk pemeliharaan pengelihatian,

proteksi terhadap infeksi, regulasi sistem imun, dan sebagai antioksidan. Kekurangan vitamin A masih terjadi di banyak negara, sehingga intervensi vitamin A melalui suplementasi dan fortifikasi banyak dilakukan. Kekurangan vitamin A disebut sebagai A-avitaminosis, sementara kekurangan pro-vitamin A disebut karotenosis.

**Tabel 3. Kandungan Vitamin A dalam Pangan**

Makanan	Equivalensi Retinol (µg/100g)
<b>Makanan yang mengandung retinol</b>	
Minyak hati ikan halibut*	90.000
Minyak hati ikan kod*	18.000
Hati sapi**	13.170
Mentega*	1.059
Kuning telur bebek**	861
<b>Makanan yang mengandung karoten</b>	
Minyak sawit merah*	20.000
Daun pepaya**	5.475
Daun katuk**	3.111
Ubi jalar merah**	2.310
Wortel*	2.233
Labu	7.385 (UI)

Sumber : Almatsier (2006), USDA (2014)

## Labu

*Cucurbita moschata* dikenal sebagai labu merah atau labu kuning. Bentuk buah bulat atau lonjong dengan lekukan-lekukan di bagian luar, sementara biji menempel di bagian dalam daging buah. Bagian buah memiliki rongga yang cukup besar dengan warna daging buah kuning atau

oranye. Tanaman labu ditanam di lahan kering, banyak terdapat di daerah sepanjang sungai Mahakam, bersama-sama dengan tanaman hortikultura seperti cabai dan sayuran, serta jagung. Pada umumnya labu juga ditanam selepas masa panen padi oleh para petani di Propinsi Kalimantan Timur. Labu dapat memiliki umur simpan mencapai enam bulan setelah dipanen, asalkan kulit buah tidak mengalami kerusakan dan tempat penyimpanan bersih dan tidak lembab (Rahmadi *et al*, 2014).



**Gambar 20. Tanaman Labu di Daerah Embalut, Tenggarong Seberang dan Buah Labu**

Schoefs (2002) di dalam Rahmadi *et al* (2014) menyebutkan bahwa karotenoid merupakan salah satu komponen pigmen yang umum ditemukan di sayuran dan buah-buahan. Setyahartini (1994) menemukan beberapa komponen karotenoid di dalam labu seperti  $\beta$ -karoten dan *cucurbitaxanthin*. Penelitian terbaru (Jacobo-Valenzuela *et al*, 2011) menghasilkan karakterisasi kimia dan fisikokimia dari *C. moschata*, di

mana kadar total serat sebanyak 19,1%, pektin 7,3%, dan karotenoid 2,7 mg  $\beta$ -karoten/g produk. Dari sisi mineral, daging buah *C. moschata* unggul dalam kandungan K sebanyak 42,194 g/kg, Ca sebanyak 6,685 g/kg, dan P sebanyak 3,040 g/kg. Buah-buahan, termasuk labu, memiliki karakteristik sensoris, kandungan  $\beta$ -karoten dan antioksidan (dalam %DPPH) yang berkaitan dengan kualitas kultivar yang ditanam (Gajewski *et al*, 2008 di dalam Rahmadi *et al* 2014).

### Minyak Sawit

Minyak sawit, berasal dari ekstrak buah sawit (*Elaeis guineensis*), merupakan salah satu sumber karotenoid yang tinggi (Sirait, 2007; Rossi *et al*, 2001). Minyak sawit merah mengandung setidaknya 12 komponen karotenoid dengan komponen dominan  $\alpha$ - dan  $\beta$ -karoten. Komponen lainnya adalah mono- dan di-epoksida,  $\alpha$ - dan  $\beta$ -hidrokarbon isomerik dari karoten, serta fitoene. Konsentrasi  $\alpha$ - dan  $\beta$ -karoten dari minyak sawit yang diperoleh adalah minimum 506 ppm sebelum dibuat menjadi konsentrat (Rahmadi *et al*, 2014). Pemekatan total karotenoid dengan proses distilasi molekuler mampu menghasilkan 30,000 ppm karotenoid dari minyak sawit merah (Batistella *et al*, 2002).



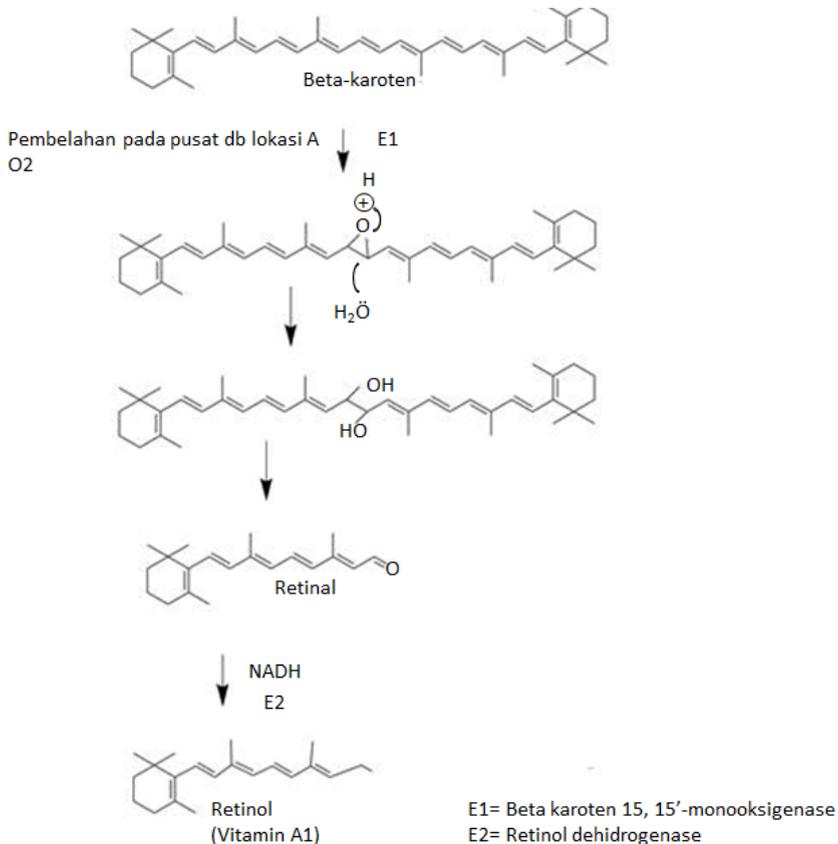
**Gambar 21. Minyak Sawit Merah dan Buah Sawit (*Elaeis guineensis*)**

Sumber: internet

Minyak sawit merah telah digunakan sebagai intervensi untuk menurunkan prevalensi penyakit terkait defisiensi vitamin A. Misalnya, serum ibu untuk  $\alpha$ -karoten dan  $\beta$ -karoten meningkat dua kali setelah intervensi minyak sawit merah selama 10 hari pada konsentrasi 90 mg setara  $\beta$ -karoten (Rahmadi *et al*, 2014). Hasil ini juga menunjukkan bahwa keterserapan minyak sawit merah adalah 67% lebih baik daripada suplemen  $\beta$ -karoten murni (Canfield *et al*, 2001). Salah satu penyebab bioavailabilitas minyak sawit merah yang tinggi dibandingkan dengan suplemen  $\beta$ -karoten murni adalah sinergisme antara tokotrienol dan karotenoid sebagai antioksidan di minyak sawit merah (Rossi *et al*, 2001; Batistella *et al*, 2002).

## Konversi Pro-Vitamin A menjadi Vitamin A

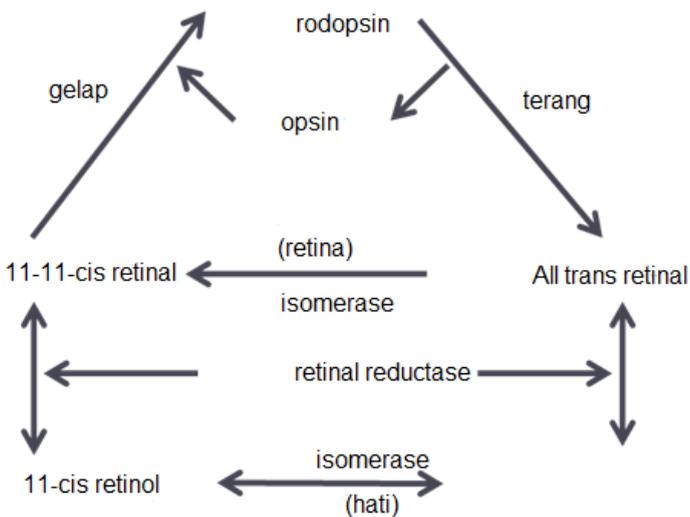
Pro-vitamin A dalam wujud trans- $\beta$ -karoten akan mengalami oksidasi pada gugus A (Gambar 22) dengan bantuan enzim  $\beta$ -karoten 15,15'-monooksigenase. Proses ini berlanjut, sehingga kemudian satu trans- $\beta$ -karoten memisah menjadi dua retinal. Enzim retinol dehidronase dan senyawa NADH selanjutnya diperlukan dalam proses konversi retinal menjadi retinol (Gambar 22).



**Gambar 22. Konversi Karoten menjadi Retinol**

## Fungsi Vitamin A dalam Penglihatan

Vitamin A berperan langsung terhadap penglihatan. Trans-retinal pada retina akan mengalami isomerisasi menjadi 11-11-cis retinal saat hormon opsin dikonversi menjadi rodopsin, akibatnya mata akan menyesuaikan diri untuk melihat di kegelapan. Sebaliknya pada kondisi terang, hormon rodopsin akan dikonversi kembali menjadi opsin, 11-11-cis retinal mengalami reduksi menjadi 11-cis-retinol, yang kemudian mengalami isomerisasi di hati kembali menjadi trans-retinol. Trans retinol dengan bantuan enzim retinal reduktase akan menjadi trans retinol.

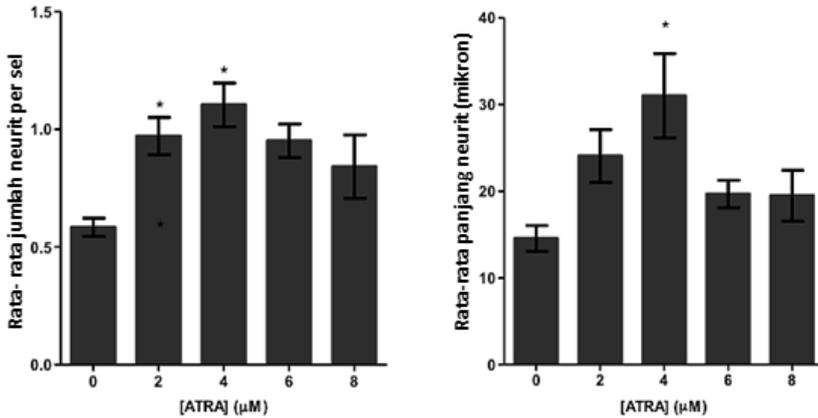


**Gambar 23. Peranan Retinol dalam Penglihatan**

## Fungsi Vitamin A sebagai Pemelihara Sel Syaraf

Berdasarkan hasil penelitian terdahulu (Rahmadi *et al*, 2013), efek protektif dari asam trans-retinoat (*all trans retinoic acid*, ATRA) terhadap

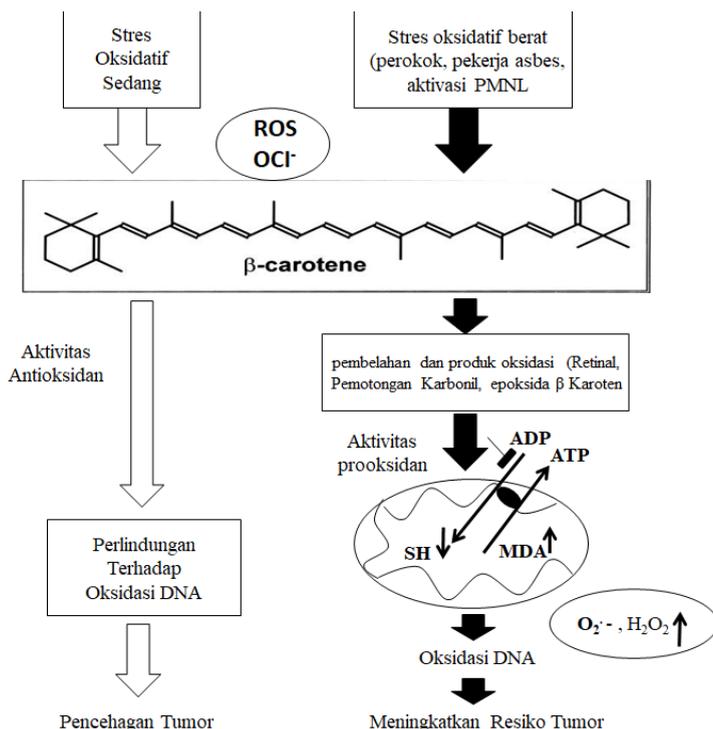
jumlah neurite per sel syaraf tikus terdapat pada konsentrasi 2-4  $\mu\text{M}$ . Pada konsentrasi penambahan ATRA 4  $\mu\text{M}$ , rata-rata panjang neurite dari sel syaraf mencapai kondisi optimum. Ini menunjukkan bahwa asam trans-retionat berperan terhadap kesehatan sel syaraf.



**Gambar 24. Efek ATRA terhadap Rata-Rata Jumlah dan Panjang Neurite Sel Syaraf**

### Fungsi Pro-Vitamin A sebagai antioksidan

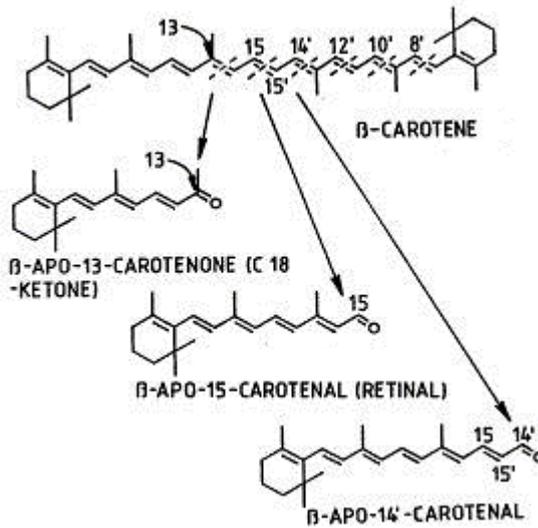
Dalam peranannya sebagai antioksidan,  $\beta$ -karoten akan mengikat spesies oksigen reaktif (ROS) dan gugus OCI radikal. Keberadaan  $\beta$ -karoten dalam jumlah yang cukup diperlukan utamanya untuk menghindari oksidasi retinal, gugus karbonil, dan  $\beta$ -karoten epoksida yang akan menyebabkan peningkatan ROS di dalam sel. Apabila keberadaan ROS terus meningkat, oksidasi DNA dapat terjadi, sehingga risiko timbulnya tumor menjadi besar (Gambar 25).



**Gambar 25. Peranan Beta Karoten sebagai Antioksidan**

Sumber: Seims *et al* (2002)

Dalam peranannya sebagai antioksidan, β-karoten menyediakan dirinya menjadi tempat terjadinya oksidasi. Ini dimungkinkan karena gugus β-karoten banyak memiliki ikatan rangkap. Apabila oksidasi terjadi di atom C ke-13, maka β-karoten akan direduksi menjadi β-apo-13-karotenon. Demikian pula apabila oksidasi terjadi di atom C ke-14, maka β-karoten akan direduksi menjadi β-apo-14-karotenal. Sementara apabila oksidasi terjadi di atom C ke-15, maka β-karoten akan direduksi menjadi β-apo-15-karotenal, atau disebut retinal (Gambar 26).



**Gambar 26. Proses oksidasi beta karoten dan turunannya**  
 Sumber: Haila (1999)

## Vitamin E

Jannah (2017) menyebutkan bahwa vitamin E merupakan vitamin yang larut dalam lemak. Selain tokoferol, tokotrienol juga merupakan senyawa lain dari vitamin E. Tokoferol dan tokotrienol dikenal mempunyai aktifitas biologis sebagai vitamin E. Di alam terdapat delapan jenis senyawa yang mengandung aktifitas vitamin E, yaitu  $\alpha$ -tokoferol,  $\delta$ -tokoferol,  $\gamma$ -tokoferol,  $\beta$ -tokoferol,  $\alpha$ -tokotrienol,  $\beta$ -tokotrienol,  $\delta$ -tokotrienol, dan  $\gamma$ -tokotrienol. Diantara jenis-jenis tersebut,  $\alpha$ -tokoferol mempunyai biopotensi terbesar dan menunjukkan aktivitas biologis vitamin E yang sesungguhnya.

Sumber vitamin E dapat diperoleh secara sintesis maupun secara alami. Sumber vitamin E alami banyak terdapat pada minyak tumbuh-

tumbuhan seperti minyak jagung, minyak kedelai, minyak kelapa sawit dan juga biji-bijian lainnya (Jannah, 2017). Selain dari tanaman, vitamin E juga dapat dihasilkan dari hewan air seperti ikan (Winarsi, 2007). Menurut Sambanthamurthi *et al* (2000), minyak sawit merah mengandung vitamin E sebesar 600-1000 ppm, terdiri atas campuran tokoferol (18-22%) dan tokotrienol (78-82%). Tokotrienol utama dalam minyak meliputi  $\alpha$ -tokotrienol (22%),  $\gamma$ -tokotrienol (46%),  $\delta$ -tokotrienol (12%).

**Tabel 4. Kandungan Tokoferol dan Tokotrienol pada Minyak Sawit Merah**

Tipe	Kandungan (%)
$\alpha$ -tokoferol	21,5
$\beta$ -tokoferol	3,7
$\gamma$ -tokoferol	3,2
$\delta$ -tokoferol	1,6
$\alpha$ -tokotrienol	7,3
$\beta$ -tokotrienol	7,3
$\gamma$ -tokotrienol	43,7
$\delta$ -tokotrienol	11,7

Sumber: Shahidi (1999)

Fungsi vitamin E pada umumnya adalah sebagai antioksidan karena mampu melindungi *polyunsaturated fatty acids* (PUFAs) seperti asam oleat, asam linoleat dan asam arakhidonat. Vitamin E di dalam tubuh berfungsi sebagai antioksidan alami karena menangkap radikal bebas dan molekul oksigen radikal dalam mencegah peroksidasi membran asam lemak tak jenuh (Burke, 2007). Vitamin E bekerja sebagai antioksidan karena senyawa ini mudah teroksidasi, sehingga dapat melindungi senyawa lain dari proses oksidasi. Vitamin E merupakan pertahanan

utama melawan oksigen radikal, lipid peroksida radikal, dan radikal bebas secara umum (Jannah, 2017). Reaksi berantai radikal bebas dapat merusak membran sel, termasuk membran lisosom, sehingga enzim lisosom menjadi bebas dan merusak bagian-bagian sel yang lain. Sebagai akibatnya, organ tubuh akan menjadi rusak dan tidak berfungsi sebagaimana seharusnya.

## Vitamin Larut Air berkhasiat Antioksidan

### Asam Folat

Asam folat adalah senyawa induk dari sekumpulan senyawa yang secara umum disebut folat dengan ciri mempunyai berat molekul (BM) 441. Molekul asam folat terdiri atas tiga gugus fungsi yaitu cincin yang mengandung atom nitrogen (pteridin), cincin psoriasis amino benzoic acid (PABA), dan asam amino glutamate. Vitamin ini termasuk dalam kelompok vitamin B, dikenali sebagai vitamin B<sub>9</sub> yang merupakan salah satu unsur penting dalam sintesis *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) yang dibutuhkan dalam sintesis pirimidin. Tubuh manusia membutuhkan asupan dari makanan untuk memenuhi kebutuhan, karena tubuh tidak dapat mensintesis struktur folat sendiri. Asam folat memiliki kelarutan di air sebanyak 1.6 mg/L pada suhu 25 °C (NCBI database, diakses tanggal 26 Oktober 2017).

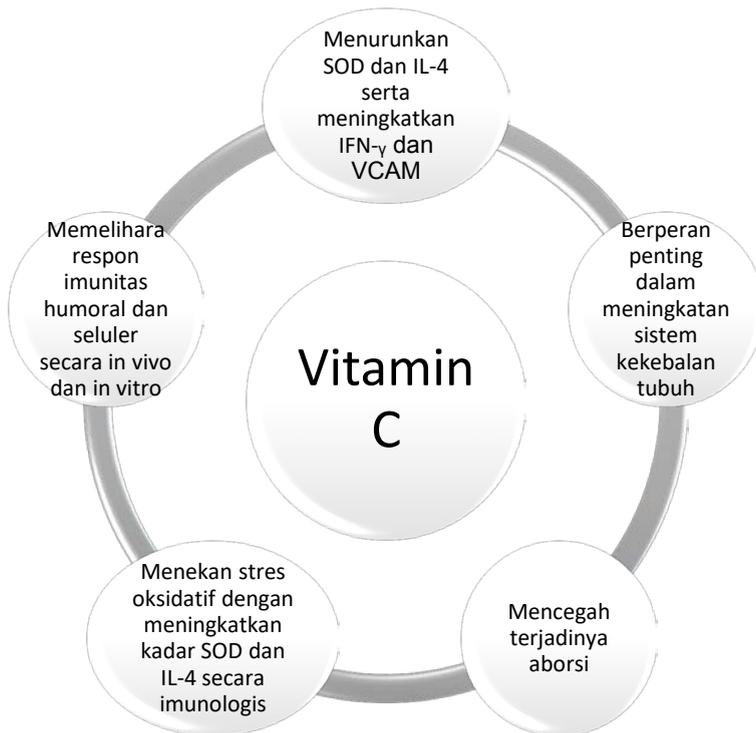
Secara umum asam folat dapat dijumpai di semua bahan makanan dengan kadar yang berbeda-beda. Asam folat pada berbagai tumbuhan dan jaringan hewan terdapat sebagai poliglutamat dalam bentuk gugus metil atau formil yang tereduksi. Asam folat juga terdapat pada sayuran berdaun hijau, susu, daging dan ikan. Asam folat memiliki sifat sensitif terhadap paparan cahaya, suhu tinggi dan mudah teroksidasi. Proses pengolahan bahan pangan dapat merusak sekitar 50-90% asam folat dalam makanan, sehingga diperlukan teknik penanganan khusus untuk mempertahankan kandungannya. Asupan asam folat adalah sebanyak 3,1 mg/kg bb/hari sebagai angka kecukupan gizi yang dianjurkan. Untuk wanita hamil dan menyusui, asupan asam folat yang dianjurkan adalah 400 mg/hari.

Asam folat sebagai antioksidan memiliki peranan penting pada periode pembelahan sel dan pertumbuhan sel. Oleh karena itu, asam folat sangat penting bagi ibu hamil karena dapat mencegah resiko kecacatan tabung saraf (*Neural Tube Defects*) yaitu kelainan otak dan tulang belakang. Anak-anak dan manusia dewasa memerlukan asupan asam folat secara reguler untuk memproduksi sel darah merah dan mencegah anemia.

## Vitamin C

Vitamin C merupakan vitamin larut air yang berperan sebagai senyawa yang membantu biosintesis kolagen untuk menyusun jaringan-jaringan penyokong pada tubuh seperti jaringan kulit, sendi, tulang dan jaringan penyokong lainnya. Vitamin C juga mampu menangkal radikal bebas dan mampu menurunkan sintesis pigmen dengan jalan menghambat aktivitas enzim tirosiase. Vitamin C memiliki kemampuan reduksi yang tinggi dan berperan sebagai kofaktor enzim dalam biosintesis karnitin dan jaringan transmisi syaraf secara *in vitro*.

Secara umum fungsi vitamin C digambarkan dalam lima kategori. Pertama, pemberian vitamin C bagi tubuh berperan penting dalam membantu meregulasi *enzim superoxide dismutase (SOD)*, produksi interleukin-4 (IL-4) produksi interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) dan protein *vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1)*. Vitamin C mempertahankan respon imun humoral dan seluler secara *in vivo* dan *in vitro*. Stres oksidatif dapat ditekan dengan bantuan Vitamin C yaitu dengan meningkatkan kadar SOD dan IL-4 secara imunologis. Selanjutnya, Vitamin C juga membantu pencegahan aborsi dan memainkan peranan penting dalam peningkatan sistem kekebalan tubuh (Gambar 27).



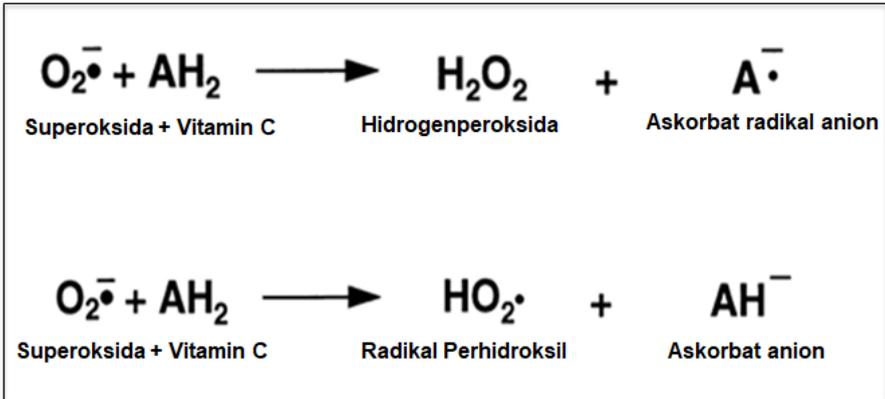
**Gambar 27. Peran Penting Vitamin C dalam Tubuh**

Sumber: Handono *et al* (2015)

### Fungsi Vitamin C sebagai antioksidan

Secara sederhana, gambar 28 menyajikan fungsi vitamin C sebagai antioksidan. Vitamin C dapat berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan satu atau dua atom H-nya untuk berikatan dengan radikal superoksida. Apabila satu atom H dari vitamin C yang berikatan, maka superoksida akan direduksi menjadi radikal hidroperoksil, sementara vitamin C akan bermuatan negatif. Apabila radikal superoksida

mendapatkan dua atom H dari vitamin C, maka senyawa yang terbentuk adalah hidrogen peroksida dan radikal askorbat.



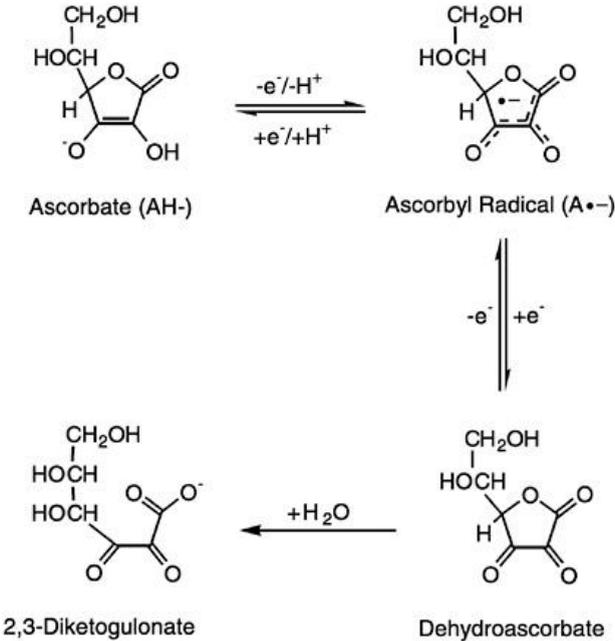
**Gambar 28. Fungsi Vitamin C sebagai Antioksidan**

Sumber: Heitzer *et al* (1996)

Vitamin C atau asam askorbat sebagai zat pereduksi potensial memiliki kemampuan untuk mereduksi banyak senyawa. Asam askorbat akan dioksidasi menjadi *dehydroascorbic* (DHA), yang dengan sendirinya dapat bertindak sebagai sumber dari vitamin tersebut. Asam askorbat dan DHA memiliki aktivitas anti-skorbutik yang apabila terganggu akan menyebabkan defisiensi vitamin C. Penderita gangguan penyerapan vitamin C selanjutnya akan mengalami gangguan sintesis kolagen yang diperlihatkan dalam bentuk pendarahan subkutan serta pendarahan lainnya, otot lemah, dan gusi bengkak.

Asam askorbat merupakan vitamin fungsional dalam bentuk enolik dari  $\alpha$ -ketolactone (2,3-didehydr L -threo-hexano-1,4-lactone) yang fungsinya sebagai reduktor dan antioksidan. Satu elektron oksidasi radical

ascorbyl akan segera dimutasi untuk asam askorbat dan DHA sebagai produk oksidasi dua elektron. Kemudian radikal askorbil dan DHA akan diubah menjadi asam askorbat secara *in vivo*. DHA dapat dihidrolisis secara ireversibel menjadi 2,3-diketogulonat. Struktur molekul asam askorbat mengandung atom karbon asimetris yang memungkinkan dua bentuk enantiomerik, di mana bentuk *levo* (L) terbentuk secara alamiah (Gambar 29).

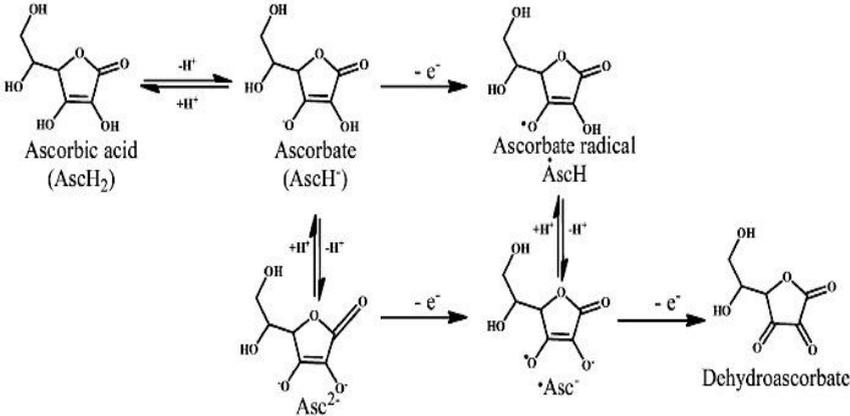


**Gambar 29. Perubahan Bentuk Asam Askorbat dalam Proses Oksidasi-Reduksi**

Sumber: Arab *et al* (2000)

Dalam menangkal radikal bebas, asam askorbat vitamin C berubah menjadi radikal askorbat dengan menyumbangkan elektron ke radikal lipid yang bertujuan untuk menghentikan reaksi rantai peroksida lipid.

Pasangan radikal askorbat bereaksi cepat untuk menghasilkan satu molekul dehidroaskorbat (DHA) di mana DHA tidak mampu untuk menghasilkan efek antioksidatif, sehingga DHA akan diubah kembali menjadi askorbat dengan penambahan dua elektron. Penambahan dua elektron ke DHA dilakukan dengan bantuan enzim oksidoreduktase.



**Gambar 30. Mekanisme Donor H dari Vitamin C**

Sumber: Nimse dan Pal (2015)

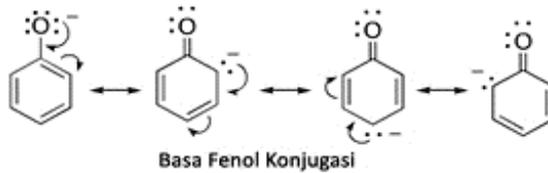
**Senyawa-Senyawa Fitokimia**

Tjandra *et al* (2011) di dalam Sari (2017) dan Lewar (2016) menyebutkan bahwa kelompok senyawa fitokimia merupakan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu bahan alam. Senyawa fitokimia tidak termasuk ke dalam zat gizi karena bukan berupa karbohidrat, protein, lemak, vitamin, mineral maupun air. Rorong *et al* (2012) menyebutkan bahwa bahan alam seperti tanaman baik *edible* dan *non edible* mengandung sejumlah besar fitokimia seperti senyawa fenolik

seperti asam fenolat, flavonoid, tanin, lignin dan senyawa yang non fenolik seperti karotenoid, vitamin C (asam askorbat) yang memiliki substansi antioksidan dan aktivitas antiradikal bebas. Sumber-sumber senyawa fitokimia terbaik umumnya adalah buah-buahan dan sayuran hijau.

### Senyawa Fenolik

Rahmawati (2015) di dalam Sari (2017) menyebutkan bahwa senyawa Fenolik adalah senyawa yang mempunyai sebuah cincin aromatik yang berasal dari tumbuhan dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Fenol dapat dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu fenol sederhana dan polifenol. Contoh fenol sederhana adalah orsinol, 4-metilresolsinol, 2-metilresolsinol, resolsinol, katekol, hidrokuinon, pirogalol dan floroglusinol. Contoh polifenol adalah lignin, melanin dan tanin (Doughari, 2012). Sisein (2014) menyatakan bahwa mekanisme antioksidan senyawa polifenol didasarkan pada kemampuan sumbangan hidrogen dan ion logam pengelat. Setelah menyumbangkan atom hidrogen, senyawa fenolik menjadi resonansi-stabil radikal yang tidak mudah berpartisipasi dalam reaksi radikal lainnya (Gambar 31)

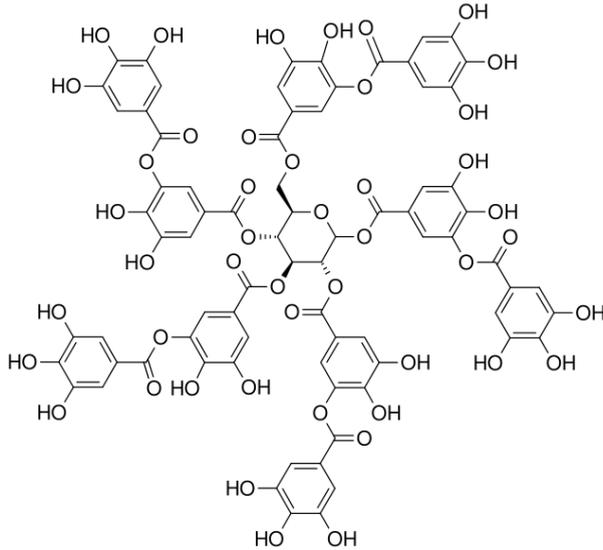


**Gambar 31. Proses Resonansi Senyawa Fenolik**

Sumber: <http://www.chemhelper.com/acidbase2.html>

## Tanin

Desmiaty *et al* (2008) di dalam Lewar (2016) menyebutkan bahwa tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut. Wahyuni *et al.* (2014) menyebutkan bahwa tanin merupakan senyawa antinutrisi yang memiliki gugus fenol dan bersifat koloid. Tanin dapat digolongkan menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis merupakan polimer *gallic* atau *ellagic acid* yang berikatan ester dengan sebuah molekul gula, sedangkan tanin terkondensasi merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon (Jayanegara dan Sofyan, 2013 di dalam Sari, 2017) (Gambar 32).



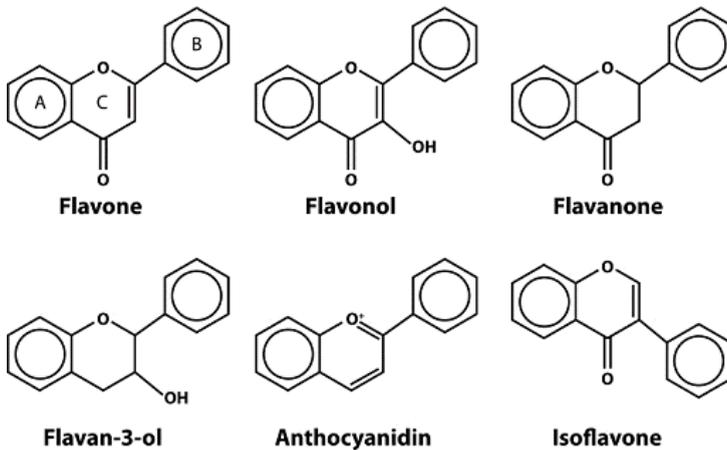
**Gambar 32. Struktur kimia dan senyawa Tanin**

Sumber: <http://www.chemhelper.com/acidbase2.html>

## Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang terdapat di alam. Lebih dari 4.000 flavonoid telah diketahui, banyak yang terdapat dalam sayuran, buah-buahan dan minuman seperti teh, kopi dan minuman buah. Quercetin, kaempferol dan quercitrin adalah flavonoid umum yang ada di hampir 70% dari tanaman. Kelompok lain dari flavonoid termasuk flavon, dihydroflavons, flavans, flavonol, anthocyanidins, proanthocyanidins, calchones dan catechin dan leucoanthocyanidins (Doughari, 2012, di dalam Lewar, 2016). Kapasitas flavonoid untuk bertindak sebagai antioksidan tergantung pada struktur molekulnya. Posisi gugus hidroksil dan fitur lainnya dalam struktur kimia dari flavonoid

penting untuk aktivitas antioksidan dan radikal bebas (Gambar 33). Di lain sisi, flavonoid seperti luteolin dan katekin, antioksidannya lebih baik dari nutrisi antioksidan seperti vitamin C, vitamin E dan  $\beta$ -karoten (Saxena et al., 2013).



**Gambar 33. Sumber-Sumber Senyawa Fitokimia**

### Buah Cempedak

Lewar (2016) menyebutkan bahwa cempedak merupakan salah satu buah asli Indonesia yang cukup dikenal dengan aromanya yang khas dari daerah tropis Indonesia. Nilai gizi daging buah cempedak cukup tinggi. Daging buah cempedak juga mengandung berbagai metabolit sekunder seperti senyawa fenol, flavonoid dan karotenoid, yang memiliki efek sebagai antioksidan (Halimatussa'diah *et al*, 2014), di mana senyawa flavonoid dalam cempedak dapat digunakan untuk mencegah dan membunuh sel kanker.



**Gambar 34. Buah Cempedak (*Artocarpus integer*)**

Cempedak banyak mengandung senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidannya yang cukup tinggi, bukan hanya daging buahnya saja tetapi juga biji dan kulitnya juga mengandung senyawa fitokimia dan juga aktivitas antioksidan. Kandungan fenol yang berfungsi sebagai desinfektan yang dapat digunakan sebagai antiseptik. Selain fenol, flavonoid juga merupakan senyawa fitokimia yang terdapat pada cempedak yang berfungsi sebagai antioksidan yang dapat mengusir radikal bebas, mengusir polusi dalam tubuh, mencegah penuaan dini dll. Karotenoid juga merupakan senyawa fitokimia yang terdapat dalam cempedak yang bermanfaat bagi tubuh yaitu sebagai antioksidan dan juga sebagai provitamin A yang berfungsi untuk menonaktifkan oksigen singlet dan berperan penting dalam proses pertumbuhan dan juga untuk menjaga kesehatan penglihatan.

**Tabel 5. Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan pada *A. integer***

Bagian Buah Cempedak	Total Fenol (mg GAE/g)	Total Flavonoid (mg CE/g)	Total Karotenoid (mg $\beta$ C/g)	Aktivitas Antioksidan	
				Uji FRAP ( $\mu$ M/g)	Uji ABTS (mg/g)
Kulit	21,29 $\pm$ 0,43	17,45 $\pm$ 0,46	1,17 $\pm$ 0,05	218,91 $\pm$ 11,36	11,93 $\pm$ 0,09
Biji	11,87 $\pm$ 0,30	3,58 $\pm$ 0,11	0,72 $\pm$ 0,01	76,58 $\pm$ 6,63	7,71 $\pm$ 0,34
Daging Buah	4,40 $\pm$ 0,20	0,82 $\pm$ 0,06	1,09 $\pm$ 0,03	13,59 $\pm$ 0,64	3,97 $\pm$ 0,08

Keterangan:

- Total fenol dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat dalam 1 g sampel kering (mg GAE/g)
- Total flavonoid dinyatakan sebagai mg ekuivalen katekin dalam 1 g sampel kering (mg CE/g)
- Total karotenoid dinyatakan sebagai mg ekuivalen  $\beta$ -karoten dalam 1 g sampel kering (mg  $\beta$ C/g)
- FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma/ Ferric Reducing Antioxidant Power*) dinyatakan sebagai  $\mu$ M reduksi dari feri ke fero dalam 1 g sampel kering.
- ABTS (*2,2'-azino-bis (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)*) dinyatakan sebagai mg kapasitas antioksidan asam askorbat ekuivalen dalam 1 g sampel kering.

## Daun Senggangi

Masitah (2016) menyebutkan bahwa daun senggangi atau karamunting (*Melastoma candidum*) dikenal sebagai penghasil flavonoid yaitu l-deprenil, kuersitrin, isokuersitrin, rutin, dan kuersetin. Secara keseluruhan, daun senggangi atau karamunting memiliki kandungan kimia antara lain dari golongan saponin, flavonoid, triterpenoid dan tannin (Lisqorina dkk., 2014, Ika dkk., 2014). Secara tradisional, daun senggangi

digunakan sebagai bakterisidal, atau senyawa penghambat pertumbuhan bakteri di Taiwan. Daun dari tumbuhan ini digunakan oleh masyarakat lokal sebagai penghilang rasa pahit. Belum ada mekanisme yang jelas, utamanya dari senyawa aktif yang mendukung klaim tersebut. Selain kandungan flavonoid yang tinggi (Wang dan Hsu, 2007), bagian lain dari tanaman daun senggani memiliki bahan aktif yang telah pula diidentifikasi. Buahnya memiliki kandungan kimia yaitu flavonoid, saponin, kuinon, monoterpena, steroid, polifenolat, fenolat, dan tanin. Batangnya mengandung alkaloid, saponin, fenolik, dan flavonoid (Lutfiatun dkk., 2015).



**Gambar 35. Daun Senggani (*Melastoma candidum*)**

Indikasi kandungan total fenol dan tanin dari daun senggani dalam bentuk segar dan bubuk telah diteliti oleh Masitah (2016) dengan hasil seperti yang dicantumkan dalam tabel 6. Dikarenakan kadar air yang rendah pada bubuk daun senggani, kadar total fenol dan tanin

terhidrolisis meningkat empat kalinya. Peningkatan kadar total fenol dan tanin terhidrolisis dari bubuk daun senggani dibanding bentuk segarnya berefek pada peningkatan kemampuan penghilangan rasa pahit sekitar dua kali lipat.

**Tabel 6. Hasil Rerata Sifat Kimia Daun Senggani Segar dan Bubuk Daun Senggani**

Bahan	Parameter Uji	
	Total Fenol (mg GAE/Kg)	Total Tanin Terhidrolisis (mg TAE/Kg)
Daun senggani segar	63,640 ± 0,116	241,516 ± 2,399
Bubuk daun senggani	250,690 ± 0,194	813,348 ± 6,399

## Buah Naga

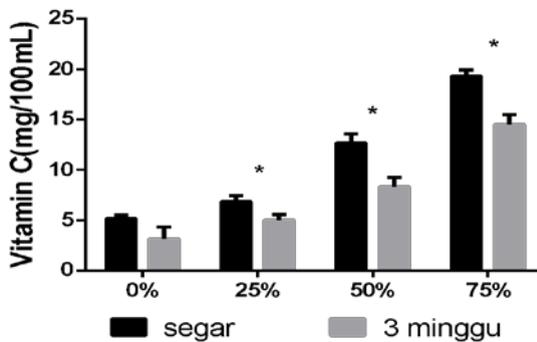
Buah naga memiliki kandungan gizi yang cukup lengkap dan sangat diperlukan oleh tubuh seperti protein, lemak, betakaroten, kalium, fosfor, besi, vitamin B dan C dan serat. Kandungan zat gizi buah naga merah per 100 gram dapat dilihat pada tabel 7.

**Tabel 7. Kandungan Zat Gizi Buah Naga Merah per 100 gram**

Komponen	Kadar
Betakaroten (mg)	0,005-0,012
Vitamin B1 (mg)	0,28-0,30
Vitamin B2 (mg)	0,043-0,045
Vitamin C (mg)	8-9
Niasin (mg)	1,297-1,300

Sumber : Taiwan Food Industry Development and Research Authorities dalam Panjuantiningrum (2009).

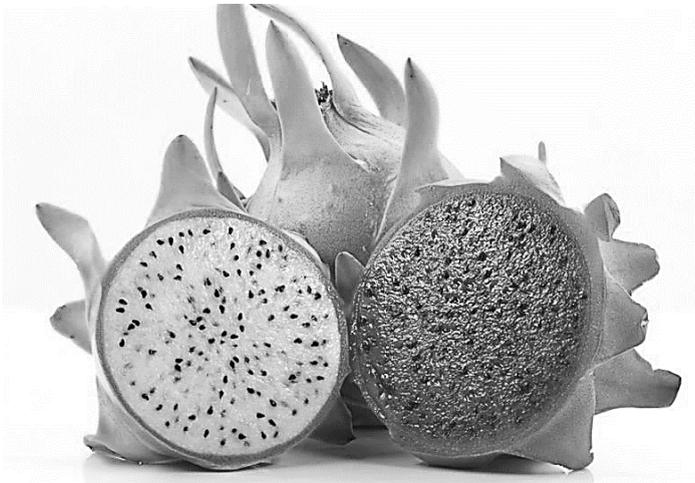
Dari hasil penelitian Setionugroho (2016), proses penambahan buah naga merah pasteurisasi segar pada suatu produk emulsi yaitu semakin tinggi konsentrasi buah naga semakin tinggi pula kandungan vitamin C yang didapatkan. Pada proses pasteurisasi penyimpanan selama 3 minggu terjadi pengurangan kadar vitamin C pada masing masing perlakuan jika dibandingkan dengan yang tanpa penyimpanan dan semakin tinggi konsentrasi buah naga merah semakin tinggi kandungan vitamin C dari produk tersebut.



**Gambar 36. Perbandingan Kandungan Vitamin C setiap Perlakuan Produk Emulsi Pasteurisasi Segar dan Penyimpanan Suhu Ruang Selama 3 Minggu**

Keterangan: Diagram batang diperoleh dari perhitungan rata-rata dan standar deviasi. Diagram batang yang diikuti dengan tanda \* menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji *Multiple T-Test*. 0% = Perbandingan buah naga merah : air (0:100), 25% = Perbandingan buah naga merah : air (25:75), 50% = Perbandingan buah naga merah : air (50:50), 75% = Perbandingan buah naga merah : air (75:25).

Selain memiliki kandungan zat gizi yang lengkap, buah naga merah juga mengandung fitokimia yang baik bagi tubuh, diantaranya flavonoid (Bulan, 2015). Buah naga merah memiliki betalains yang mengandung fenolik dan struktur non-fenolik yang bertanggung jawab untuk kapasitas antioksidan utama *Hylocereus* ungu, sedangkan fenolik non-betalainik menyumbang senyawa hanya sampai batas kecil yaitu  $7,21 \pm 0,02$  mg CE/100 gram. Betalains terkait dengan *anthocyanin* (yaitu turunan flavonoid), pigmen kemerahan yang ditemukan di kebanyakan tanaman. Namun, betalains secara struktural dan kimia seperti *anthocyanin* [1,6] karena mengandung nitrogen sedangkan *anthocyanin* tidak (Nurliyana dkk., 2010). Flavonoid yang terkandung dalam buah naga meliputi quercetin, kaempferol, dan isorhamnetin (Panjuantiningrum, 2009).



**Gambar 37. Dua Jenis Buah Naga yang Umum Ditanam di Indonesia**

Buah naga biasanya dikonsumsi oleh orang-orang secara langsung atau diproses menjadi jus. Produk sampingan utama buah naga adalah kulitnya. Betalains di pulp spesies *Hylocereus* ungu bertanggung jawab atas kapasitas antioksidan utama dan kulit juga mengandung lebih atau kurang sifat antioksidan karena warna yang sama ataupun lebih merah (Bulan, 2015). Baik kulit dan buah dapat bermanfaat terutama dalam makanan (Nurliyana dkk., 2010). Kandungan flavonoid pada daging buah naga merah sebanyak  $7,21 \pm 0,02$  mg CE/100 gram (Wu dkk., 2006). Kandungan zat antioksidan dari buah naga merah dapat dilihat pada Tabel 8.

**Tabel 8. Kandungan Zat Antioksidan Buah Naga**

Puree Buah	TSP ( $\mu\text{g GA/g}$ )	TAA ( $\text{mg}/100\text{g}$ )	ORAC ( $\mu\text{M TE/g}$ )	DPPH ( $\mu\text{g GA/g}$ )
Buah naga Merah	$1075 \pm 72$	$55,8 \pm 2,0$	$7,6 \pm 0,1$	$134,1 \pm 30,1$
Buah naga Putih	$523,4 \pm 33,6$	$13,0 \pm 1,5$	$3,0 \pm 0,2$	$34,7 \pm 7,3$

Sumber : Mahattanatawee dkk., 2006

Keterangan :

*TSP* : Total Soluble Phenolic

*TAA* : Total Ascorbic Acid

*ORAC* : Oxygen Radical Absorbance Capacity

*DPPH* : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

## Cokelat

Cokelat merupakan sebutan untuk hasil olahan makanan atau minuman dari biji kakao (*Theobroma cacao*). Sebagai makanan yang digemari, cokelat tidak sedikit memberikan manfaat untuk mendukung kesehatan bagi konsumennya. Cokelat memiliki kandungan senyawa polifenol yang berperan sebagai antioksidan. Penelitian secara *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan bahwa polifenol biji kakao memiliki antioksidan yang mampu menekan hidrogen peroksida dan anion superoksida, melindungi lemak dari kerusakan oksidasi, bertindak sebagai antiulserik, antimikrobia, antikarsinogenik, antimutagenik, menghambat pertumbuhan tumor dan kanker, dan mengurangi penyakit-penyakit karena oksidasi *low density lipoprotein* (LDL) (Kattenberg, 2000; Osakabe *et al.*, 2000, 1998a, 1998b; Sanbogi *et al.*, 1998).

Hii *et al.* (2009), Belscak *et al.* (2009) dan Subhashini *et al.* (2010) menyatakan biji kakao mempunyai kandungan polifenol berikut aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan teh hijau, anggur merah maupun blueberry. Towaha (2012) menyebutkan adanya kandungan senyawa polifenol yang tinggi pada biji kakao maka produk kakao maupun produk turunannya berupa cokelat sangat berkontribusi untuk menyehatkan tubuh, karena mempunyai peran sebagai antioksidan, anti kanker, anti diabetes, anti hipertensi, anti inflamansi,

menghilangkan stres, mencegah karies gigi, memperbaiki kemampuan kognitif, meningkatkan resistensi terhadap hemolisis, menyetatkan jantung dan sebagai aprodisiak.

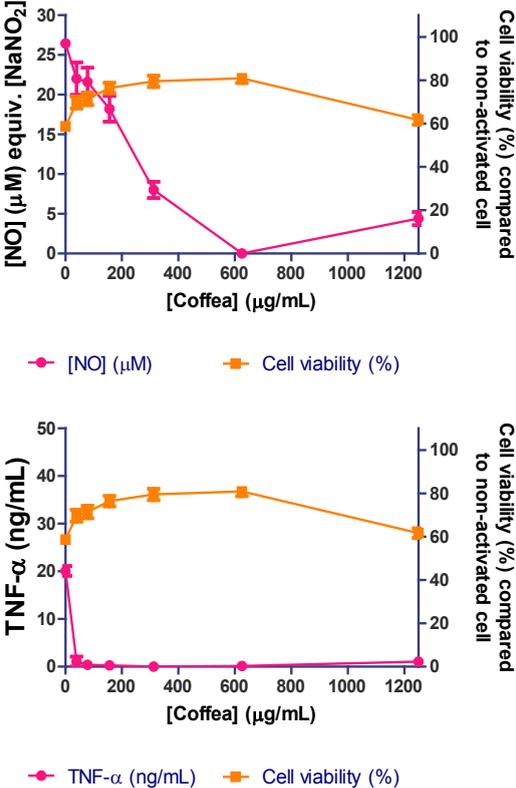
## Kopi

Konsumsi kopi bukan hanya untuk meningkatkan *mood* tetapi juga telah menjadi sebuah kultur tertentu di masyarakat dalam dan luar Negeri. Menariknya, kopi juga memiliki efek positif bagi kesehatan. Salah satu studi di Jerman berhasil membuktikan bahwa kopi mampu menyebabkan kenaikan translokasi Nrf2 (Vreente *et al*, 2014), satu molekul yang berperan dalam siklus pertahanan tubuh terhadap penyakit dan hal-hal yang kurang baik di dalam tubuh (Rahmadi, 2013).

Rahmadi (2013) melaporkan bahwa kopi luwak, terutama dari spesies kopi liberika, mampu menurunkan produksi oksida nitrit (NO), sebuah marker stress oksidatif di tingkat sel. Kopi luwak juga secara mengesankan mampu menurunkan produksi tumor nekrosis faktor alpha (TNF- $\alpha$ ), sebuah marker utama bagi inflamasi, yang juga merupakan salah satu target pengobatan dalam penyakit kanker.

Sepuluh kapasitas penghambatan produksi oksida nitrit (IC<sub>50</sub> of NO) didapat pada konsentrasi 288 $\mu$ g/mL ekstrak kopi luwak. Pada konsentrasi yang sangat rendah, 11.9 $\mu$ g/mL ekstrak, produksi TNF- $\alpha$  dapat dihambat

setengahnya. Kopi luwak dalam jumlah yang sangat besar, 1402 µg/mL ekstrak, ternyata mampu mematikan sel makrofag tikus. Satu gram kopi luwak dapat menghasilkan 220 miligram ekstrak dengan perangkat *accelerated solvent extraction* (Rahmadi, 2013).



**Gambar 38. Ekstrak Kopi Luwak dengan Medium Air dapat Menurunkan Produksi NO dan TNF-α**

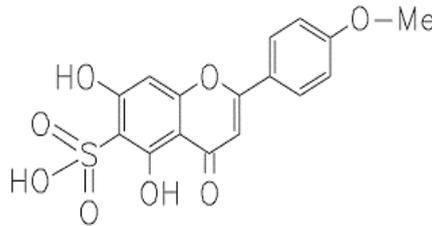
Penelitian ini dilakukan pada sel makrofag tikus 264.7 yang telah diinduksi dengan lipopolysaccharides (LPS) dan interferon-γ (IFN-γ). Densitas sel awal adalah 60,000 cells/100µL dengan waktu inkubasi 24

jam sebelum aktivasi dilakukan. Konsentrasi LPS yang digunakan adalah 10µg/mL ditambah dengan 10 U/mL IFN $\gamma$ . Waktu inkubasi sebelum pengukuran hasil adalah 24 jam. NO diukur dengan metode Griess, sementara produksi TNF $\alpha$  diukur dengan metode ELISA. Eksperimen dilakukan secara independen sebanyak dua kali dengan masing-masing data diukur triplo. Perangkat dan barang habis pakai bebas dari endotoksin.

### *Phyllanthus niruri*

*Phyllanthus niruri* adalah obat herbal penting untuk asma, hepatitis, diabetes, penyakit kuning, dan infeksi usus pada budaya Asia Tenggara, termasuk Indonesia (Rao *et al*, 2006; Chandrasekaran *et al*, 2010; Parichatikanond *et al*, 2010). Seluruh tanaman, batang apikal segar utuh, dan ekstrak kalus *Phyllanthus niruri* mengandung alkaloid, senyawa fenolik FeCl<sub>3</sub> positif, flavonoid, dan terpena (De Souza *et al*, 2002; Cimanga *et al*, 2004). *Phyllanthus niruri* juga mengandung ligan dan alkaloid yang menunjukkan aktivitas antioksidan dan hepatoprotektif (Harish dan Shivanandappa 2006; Murugaiyah dan Chan, 2007). Misalnya, 20µM niruriflavon menunjukkan kemampuan mengurangi separuh radikal kation dengan uji ABTS (Than *et al*, 2006). Fraksi protein dari ekstrak *Phyllanthus niruri* mampu mempertahankan aktivitas SOD yang

tinggi dalam sel hati (Chatterjee *et al*, 2006). *Phyllanthus niruri* juga mengandung molekul sitoprotektif dan antioksidatif 35kda yang unik (Sarkar *et al*, 2009).



**Gambar 39. Struktur Niruriflavone diisolasi dari *Phyllanthus niruri***

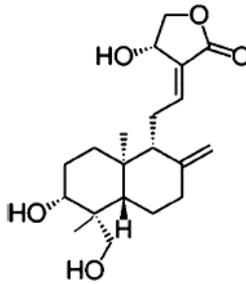
### *Andrographis paniculata*

Secara tradisional, ekstrak *Andrographis paniculata* digunakan untuk mengobati infeksi, demam, dingin, peradangan, dan juga dikenal sebagai penangkal gigitan ular. *Andrographolide* adalah konstituen utama *Andrographis paniculata* (Chen *et al*. 2011), menyumbang 3% dari daun kering setelah 120 hari disemai. Ini menghambat inflamasi TNF $\alpha$ -diinduksi oleh jalur PI<sub>3</sub>K atau Akt, ICAM-1, dan NF- $\kappa$ B (Chao *et al*, 2011; Lu *et al*, 2011).

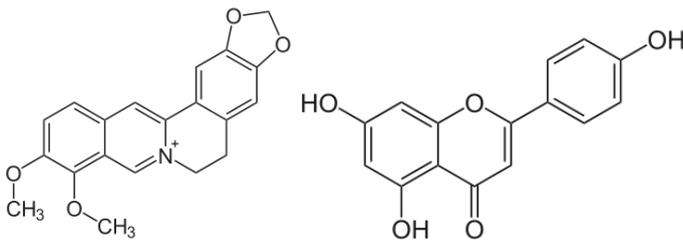
### *Tinospora crispa*

*Tinospora crispa* digunakan secara tradisional untuk mengobati hiperglikemik, diabetes, dan *rheumatoid arthritis* (Noor dan Ashcroft 1998). *T. crispa* mengandung alkaloid *quarterary* (berberin), apigenin,

pikroretosida, tinoesrisposida, tintotubrida, N-formylanondin, N-formilnomuciferin, borapetol A dan B, borapetosida A dan B, picrotein, dan  $\gamma$ -sitosterol (Rahman dkk. 2009; Othman *et al.* 2011). Ekstrak kering mentah *T. crispa* mampu menurunkan radang dari *carragenan* kaki tikus edema, sebuah model untuk mengukur aktivitas inflamasi in vivo. Aktivitas anti-inflamasi dalam model ini diamati pada 100 mg/kg *T. crispa*, menghasilkan profil yang sama dibandingkan dengan 100 mg/kg ibuprofen administrasi (Sulaiman *et al.* 2008).



**Gambar 40. Andrograpolid dari *Andrographis paniculata***



**Gambar 41. Berberine dan Apigenin dari *Tinospora crispa***

# Pangan Fungsional dan Epigenetika

Anton Rahmadi, Kartika Sari, Nikmatul Khoiriyah, dan Desy Nursayekti

*Seberapa besar pangan merepresentasikan diri kita?*

## Pendahuluan

Dalam keilmuan psikologi, manusia seutuhnya memiliki empat representasi, yaitu fisik, biologis, mental, dan spiritual. Keempat dimensi ini memerlukan pembangunan dan pemenuhan gizi yang integral sesuai dengan dimensi-dimensi yang direpresentasikan. Sebelum ilmu mengenai epigenetika berkembang, pangan dianggap hanya berpengaruh besar terhadap dimensi fisik dan biologis dari manusia, sementara mental dan spiritual dipenuhi dari unsur-unsur lain, misalnya agama, pengaruh pendidikan, dan interaksi manusia dengan lingkungannya.

Akan tetapi, seiring dengan berbagai perkembangan ilmu genetika, yang akan dijelaskan dalam bab ini, pangan ternyata memiliki pengaruh terhadap keempat dimensi yang direpresentasikan oleh manusia tersebut. Sebagai contoh, dalam ajaran agama terdapat tuntunan penyiapan pangan yang *halalan-toyyiban*, kosher, vegetarian dan vegan, dan seterusnya. Ini berarti, representasi pangan diakui dari sisi spiritualitas, di mana manusia yang baik merepresentasikan ketaatan

terhadap perintah agama untuk mengonsumsi pangan yang sesuai dengan ajaran agama masing-masing.

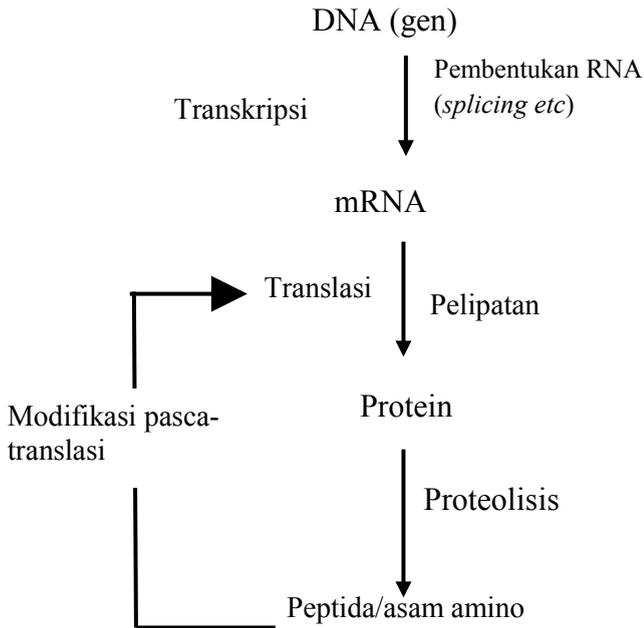
Contoh lain adalah pangan ternyata berpengaruh terhadap pola pemikiran atau mentalitas manusia yang mengonsumsinya. Manusia yang ingin memiliki mental sehat pasti akan memikirkan pangan yang sehat untuk dikonsumsi. Manusia yang taat pada aturan, pasti akan secara disiplin menjaga asupan makanannya sesuai dengan kebutuhan tubuh maupun ketentuan-ketentuan pangan yang baik dan agama yang dianutnya. Kemudian, dikarenakan keinginan secara mental untuk menjadi baik, sehat, dan berkualitas, pangan tersebut secara epigenetika akan mengubah representasi fisik dan biologis, sehingga ekspresi yang nampak dipermukaan adalah wajah yang lebih cerah berseri, kulit yang bersih, tubuh yang sehat, dan kehidupan yang lebih baik.

### Perbedaan genetika dan epigenetika

Secara istilah, genetika berarti studi tentang perubahan gen yang dapat diwariskan, yaitu studi tentang perubahan genetik pada fungsi genetik yang terjadi dengan perubahan urutan DNA. Sementara, epigenetika berarti studi tentang perubahan genetik dalam fungsi genetik yang terjadi tanpa perubahan urutan DNA. Dalam prinsip epigenetika, perubahan ekspresi gen terjadi tanpa perubahan urutan DNA, akan tetapi terjadi melalui mekanisme pembelahan sel. Jadi makna epigenetika

secara keilmuan adalah studi regulasi aktivitas gen yang tidak bergantung pada urutan gen.

Perjalanan gen hingga dapat suatu protein dapat diekspresikan dan mengalami modifikasi pasca-translasi dapat dilihat di Gambar 42. DNA yang akan diekspresikan menjadi protein pada tahap awal akan ditranskripsikan ke dalam mRNA yang disusun oleh empat nukleotida utama yaitu: adenosine (A), sitosin (C), timin (T), dan guanine (G). mRNA kemudian berpindah dari nukleolus ke sitoplasma, dan akan ditranslasikan menjadi asam-asam amino. Protein akan terbentuk dan bersifat fungsional apabila asam-asam amino tersebut telah mengalami pelipatan. Protein yang terekspresi lambat laun akan digantikan oleh protein lain, sementara protein yang sudah mengalami kerusakan atau perubahan fungsi akan mengalami proteolisis menjadi peptide atau asam-asam amino yang akan dimanfaatkan kembali dalam ekspresi protein selanjutnya. Asam-asam amino yang telah rusak akan disekresikan dari sel untuk dibuang ke luar tubuh.



**Gambar 42. Perjalanan Transkripsi, Translasi, Ekspresi, Modifikasi, dan Perombakan Protein**

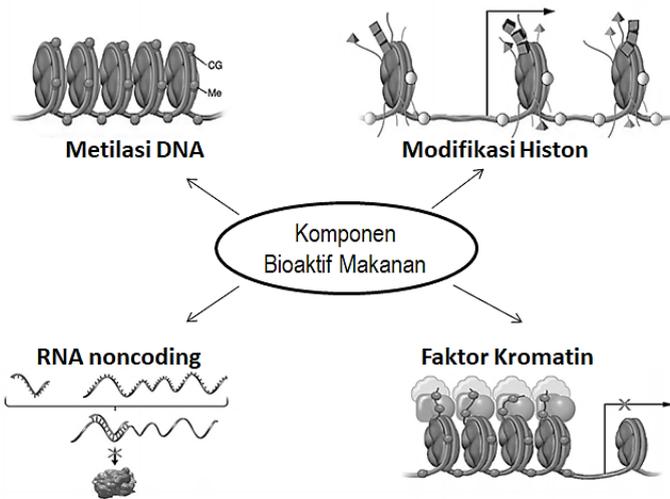
Apabila terjadi perubahan genetika, seperti mutasi akibat mikroorganisme, prion, penyakit, evolusi, dan pengaruh radioaktif, susunan DNA di dalam nukleolus akan mengalami perubahan atau kerusakan. Perubahan ini dapat dibawa secara turun-temurun dan menjadi faktor genetis yang membedakan antara satu manusia dengan manusia yang lain. Perubahan gen tentunya akan berimplikasi pada perubahan pada protein yang akan diekspresikan.

Apabila ekspresi DNA manusia mengalami perbedaan yang turun-temurun, namun secara genetika DNA manusia tersebut tidak mengalami perubahan atau kerusakan, maka inilah yang disebut dengan pengaruh

faktor epigenetika terhadap representasi dimensi fisik atau biologis dari manusia dimaksud.

### Mekanisme-mekanisme Epigenetika

Pangan fungsional dan obat-obatan herbal memiliki komponen-komponen bioaktif yang secara nutrigenomik berpengaruh terhadap epigenetik dari makhluk hidup yang mengonsumsinya. Empat pengaruh utama yang telah diketahui dan menjadi topik-topik penelitian yang populer adalah (i) metilasi gugus sitosin DNA, (ii) modifikasi histon, (iii) menonaktifkan atau menginterferensi RNA, dan (iv) menjaga kondisi kromatin dalam bentuk tidak aktif.



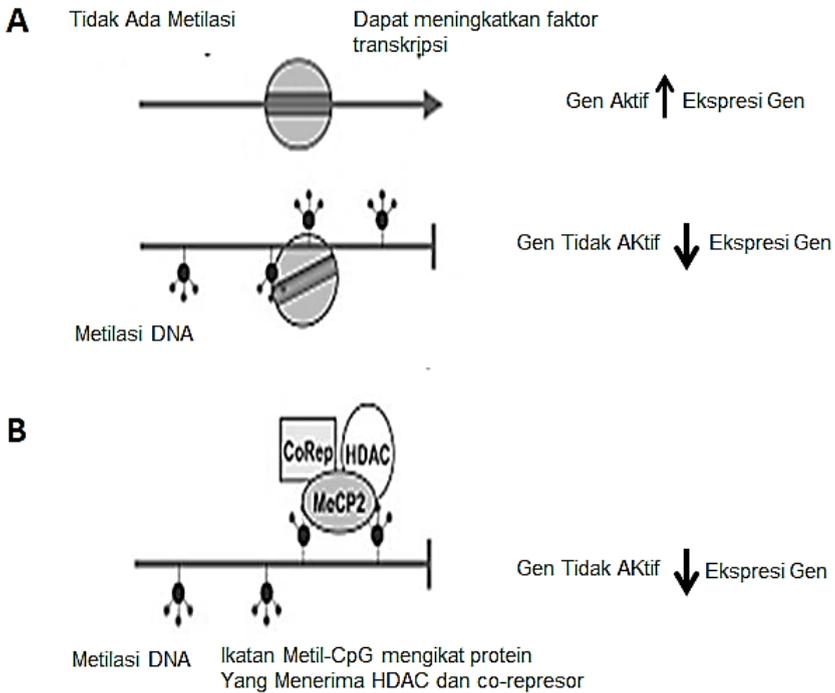
**Gambar 43. Pengaruh Epigenetika dari Komponen Bioaktif Pangan Fungsional**

Sumber: *The cell* (2015)

## Metilasi Sitosin DNA

Metilasi sitosin DNA adalah salah satu dampak yang muncul akibat konsumsi senyawa-senyawa fungsional secara epigenetik. Metilasi sitosin terjadi pada gugus dinukleotida CpG, di mana peristiwa ini sering kali terjadi pada jalur hulu gen atau wilayah promotor. Metilasi sitosin sering kali diasosiasikan dengan peningkatan atau perubahan ekspresi gen-gen yang berada di dekat wilayah yang termetilasi.

Pada kondisi tidak termetilasi, faktor transkripsi dapat berikatan, sehingga gen bersifat aktif atau ekspresi gen tertentu menjadi meningkat. Sebaliknya, pada kondisi termetilasi, faktor transkripsi tidak dapat berikatan. Akibatnya, gen bersifat inaktif atau ekspresi gen tertentu menjadi berkurang. Dalam kondisi lainnya, pengikatan gugus CpG yang termetilasi akan memunculkan ko-represor yang berakibat pada inaktivasi gen dan penurunan ekspresi gen tertentu.

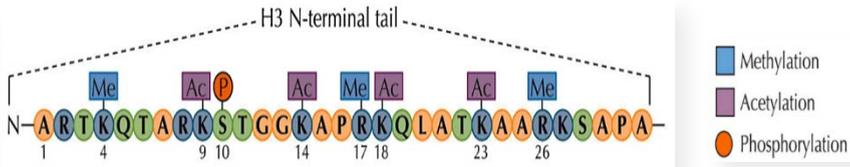


**Gambar 44. Peran Metilasi dalam Epigenetika**

Sumber: The Cell (2015)

### Modifikasi Protein Histon

Histon adalah protein yang berperan mengorganisasikan material genetik. Komposisi histon dalam asam-asam amino basal cukup banyak dan bersifat *positive charge*. Asam-asam amino dengan sifat *positive charge* pada umumnya menyebabkan DNA dalam kondisi *negative charge*. Modifikasi histon sebagai akibat dari metilasi, asetilasi, dan fosforilasi akan mengakibatkan perubahan interaksi histon dengan DNA dan pola ekspresi gen.

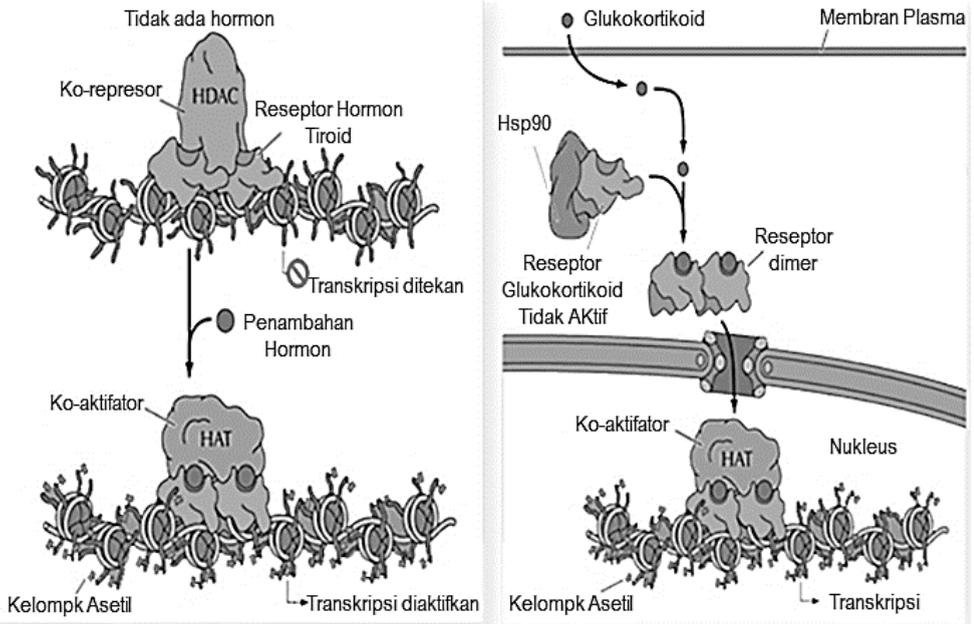


**Gambar 45. Metilasi, Asetilasi, dan Fosforilasi Histon**

Sumber: *The Cell* (2015)

Terdapat dua enzim yang mempengaruhi asetilasi histon, yaitu *histone acetyltransferase* (HAT) dan *histone deacetylase* (HDAC). Proses asetilasi menyebabkan hilangnya *positive charge* dari histon. Perubahan ini akan mengakibatkan konformasi kromatin menjadi lebih terbuka terhadap transkripsi. Pada intinya, peningkatan asetilasi histon akan berdampak pada peningkatan ekspresi genetik.

Contoh dari pengaruh signifikan dari proses asetilasi dan deasetilasi histon adalah pada hormon hidrofobik seperti tiroid dan glukokortikoid yang dipengaruhi keberadaan HAT dan HDAC. Dalam kondisi reseptor hormon tiroid dipengaruhi oleh HDAC, ekspresi gen akan berkurang. Sebaliknya, pada kondisi reseptor hormone tiroid dipengaruhi HAT, akan terjadi asetilasi pada rantai kromatin yang mengakibatkan transkripsi faktor-faktor genetik turut teraktivasi. Keberadaan glukokortikoid akan mengaktivasi reseptor dimer yang kemudian menyebabkan HAT mempengaruhi reseptor hormon tiroid.



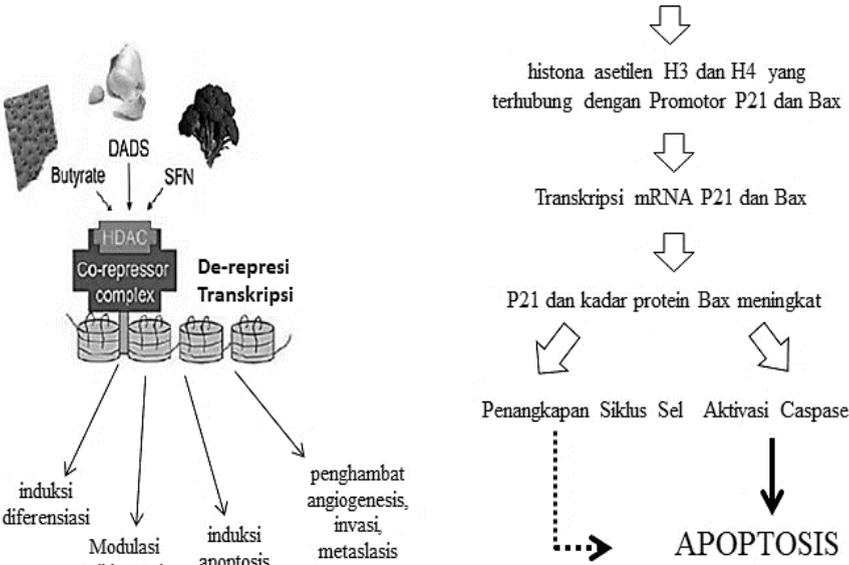
**Gambar 46. Pengaruh HAT, HDAC, dan Glukokortikoid pada Asetilasi Hormon Tiroid**

Sumber: *The Cell* (2015)

Berbagai dampak dari asetilasi histon yang diinduksi oleh pangan diantaranya adalah disebabkan oleh butirrat, dialil-disulfida dan suforafan. Ketiga senyawa ini akan mempengaruhi HDAC untuk membentuk kompleks penyebab transkripsi protein-protein penginduksi depresi. Akibatnya, sel akan terdiferensiasi, siklus sel mengalami perubahan, terjadinya kematian sel secara terprogram (apoptosis), dan penghambatan angiogenesis, invasi sel, maupun metastasis.

Dampak negatif yang ditimbulkan bahan-bahan pangan terkait dengan asetilasi histon adalah siklus sel yang terhenti dan apoptosis. Histon yang terasetilasi pada posisi H3 dan H4 akan terasosiasi dengan

promoter P21 dan Bax. Asosiasi dengan kedua promoter ini akan mengakibatkan transkripsi mRNA P21 dan Bax yang pada akhirnya meningkatkan ekspresi protein-protein tersebut. P21 dan Bax merupakan dua protein yang dapat menyebabkan siklus sel terhenti dan aktivasi jalur Caspase yang berakhir pada apoptosis.



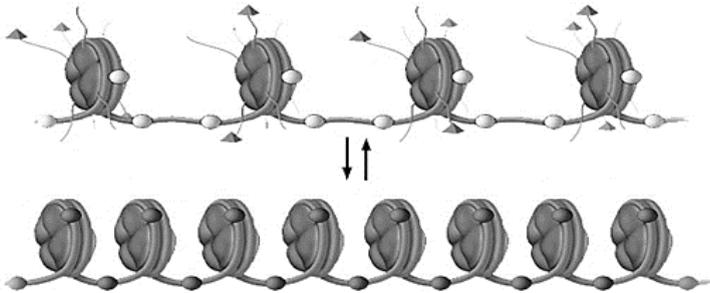
**Gambar 47. Dampak Asetilasi Histon yang diinduksi oleh Pangan**

**Dampak Metilasi Sitosin pada Faktor Kromatin**

Struktur dari kromatin berpengaruh terhadap ekspresi genetik. Pada kondisi gen yang aktif kromatin pada umumnya terbuka, gugus CpG tidak termetilasi, dan histon ditemukan dalam bentuk terasetilasi. Sebaliknya, struktur non aktif kromatin pada umumnya berada dalam keadaan rapat, dengan gugus CpG termetilasi, dan histon terdeasetilasi. Ini berarti, metilasi sitosin yang terjadi pada gugus CpG akan

menyebabkan struktur kromatin berada dalam kondisi rapat atau inaktif. Ini juga berarti, asetilasi histon akan menyebabkan struktur kromatin berada dalam kondisi renggang atau aktif.

**Gen “diaktifkan” : buka kromatin, sitosin tidak terpolimerasi, asetilasi histon**



**Gen “dimatikan” : tutup kromatin, sitosin tidak terpolimerasi, asetilasi histon**

**Gambar 48. Perubahan Struktur Kromatin dan Pengaruhnya terhadap Ekspresi Gen**

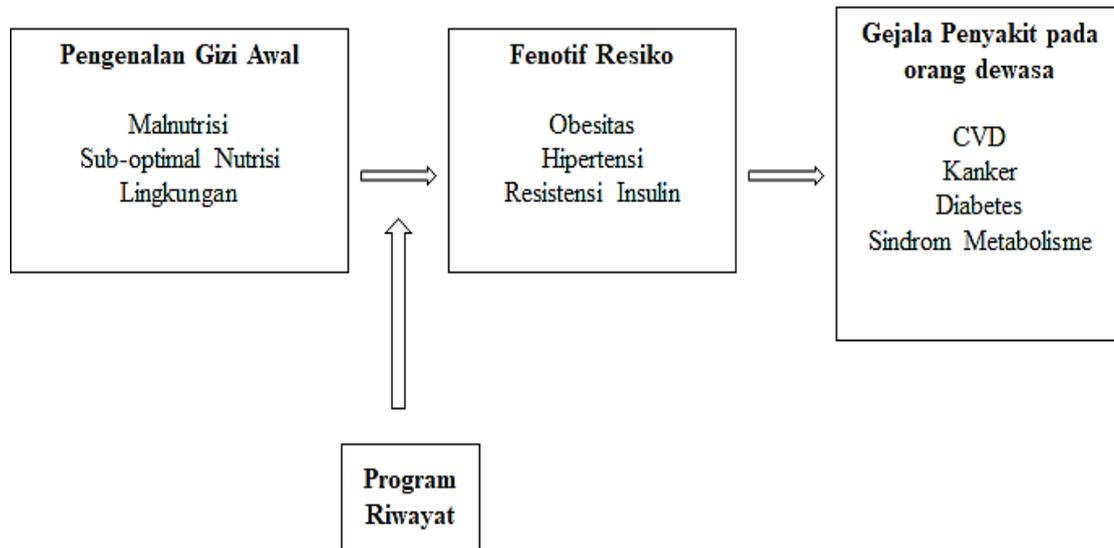
Sumber: *The Cell* (2015)

### Pengaruh Pangan Fungsional terhadap Epigenetik

Pengaruh pangan fungsional terhadap epigenetika dapat dimulai sejak janin berkembang di dalam perut. Perubahan ekspresi genetik pada janin akan dipengaruhi oleh asupan nutrisi dan kondisi lingkungan yang ada. Ini berarti, ekspresi genetik akan mempengaruhi pemrograman sel, warna kulit, tinggi badan optimal, warna mata, pertumbuhan rambut, risiko obesitas, hipertensi, atau diabetes di tingkat kehidupan sejak usia paling dini.

Di kehidupan lebih lanjut, pengaruh pangan secara fungsional akan merefleksikan faktor risiko penyakit-penyakit degeneratif yang mungkin timbul. Jika seseorang mengonsumsi pangan yang banyak mengandung protein terglykasi, seperti pada produk pangangan atau bakaran, maka risiko terkena penyakit degeneratif akibat produk akhir glikasi protein (PAGP) pun akan meningkat, misalnya kanker, diabetes, kepikunan, maupun sindrom metabolik lainnya.

Pengaruh nutrisi terhadap peranan epigenetik dalam proses fisiologis, biologis dan patologis secara singkat dirangkum dalam Tabel 9. Sebagai contoh, di tingkat perkembangan embrio, asam folat dan kolin dibutuhkan dalam jumlah yang cukup untuk terjadinya metilasi DNA. Pada manusia lanjut usia, asupan asam retionat, folat, dan restriksi karbohidrat akan menyebabkan perubahan fisiologis, biologis, dan patologis melalui mekanisme metilasi DNA dan asetilasi histon.



**Gambar 49. Hipotesis Pengaruh Pangan terhadap Epigenetik dilihat dari Usia Manusia**

**Tabel 9. Peran Nutrisi Epigenetik Dalam Proses Psikologi dan Patologi.**

	Nutrisi atau diet	Mekanisme Epigenetik
Perkembangan embrio	Folat	DNA Metilasi, Pencetakan
	Kolin	DNA Metilasi
	Pembatasan protein	DNA Metilasi, Modifikasi histon
Sel Induk	Alkohol	DNA Metilasi
	Butirat	Asetilasi Histon, DNA Metilasi
Penuaan	Asam Retinoat	PRC
	Folat	DNA Metilasi
	Pembatasan Kalori	Asetilasi Histon
Fungsi Kekebalan Tubuh	Folat	DNA Metilasi
Kanker	Methyl-deficient diet	Modifikasi histon, microRNA
	Genistein	DNA Metilasi, MicroRNA
	(-)-Epigallocatechin-3-gallate	DNA Metilasi, PRC
	Curcumin	MicroRNA
Kegemukan, Resistensi Insulin	Diet Tinggi Lemak	DNA Metilasi, MicroRNA
	Methyl-deficient diet (defisiensi metil)	DNA Metilasi
Peradangan	Curcumin	Asetilasi Histon
	Resveratrol	Asetilasi Histon
	AdoMet	Metilasi Histon
	Methyl-deficient diet	microRNA
Neurokognisi	Kolin	DNA Metilasi, Metilasi histon

## Bukti-Bukti Empiris Fungsi Pangan secara Epigenetik

### Perubahan Fisiologis pada Kembar Identik

Perubahan secara fisik, biologis, dan mental yang tampak dari pengaruh faktor-faktor epigenetik yang dominan diantaranya adalah kelectatan pertumbuhan rambut, warna rambut, warna mata, tingi badan, kecerahan warna kulit, obesitas, dan kepandaian intelektual dan emosional (IQ dan EQ). Studi terhadap pengaruh-pengaruh fisik, biologis, dan mental ini pada umumnya dapat diamati dari kembar identik.



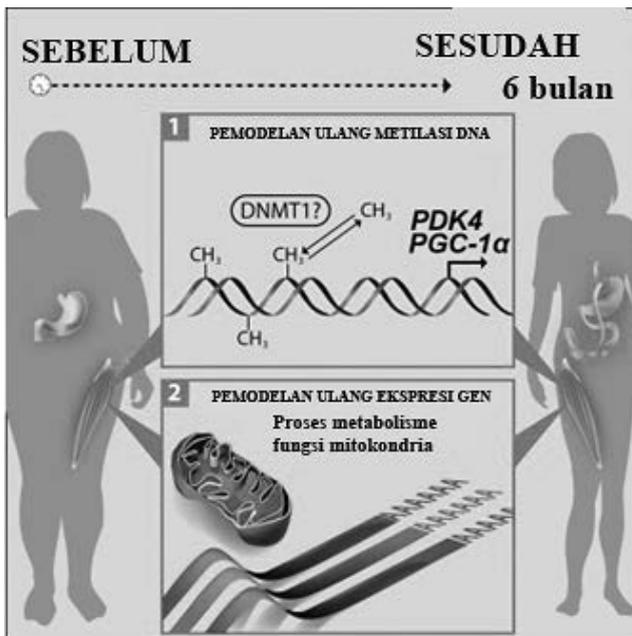
**Gambar 50. Dampak Epigenetik Pangan Fungsional terhadap Perubahan Isilogis dan Biologis**

Keterangan: (kiri) perbedaan warna kulit dan rambut (kanan) perbedaan pertumbuhan rambut dan tingi badan.

### Obesitas

Tubuh secara fisiologis dan biologis menyesuaikan diri dengan asupan pangan yang dikonsumsi. Sebagai contoh, manusia yang sering mengonsumsi makanan-makanan tinggi energi namun tidak seimbang

antara pemasukan dan pengeluaran energinya akan cenderung mengalami obesitas. Para ahli telah membuktikan bahwa obesitas dapat diubah dengan cara melakukan pemodelan ulang metilasi DNA pada lokus DNMT1 dan pemodelan ulang ekspresi DNA yang berpengaruh terhadap proses-proses metabolisme dan fungsi mitokondrial. Efeknya, setelah terapi metilasi DNA dan pemodelan ekspresi genetika yang melibatkan perubahan pola makan, puasa energi (*carbo-diet*), dan olahraga yang teratur, tubuh akan kembali ke indeks massa yang ideal dalam waktu enam bulan.

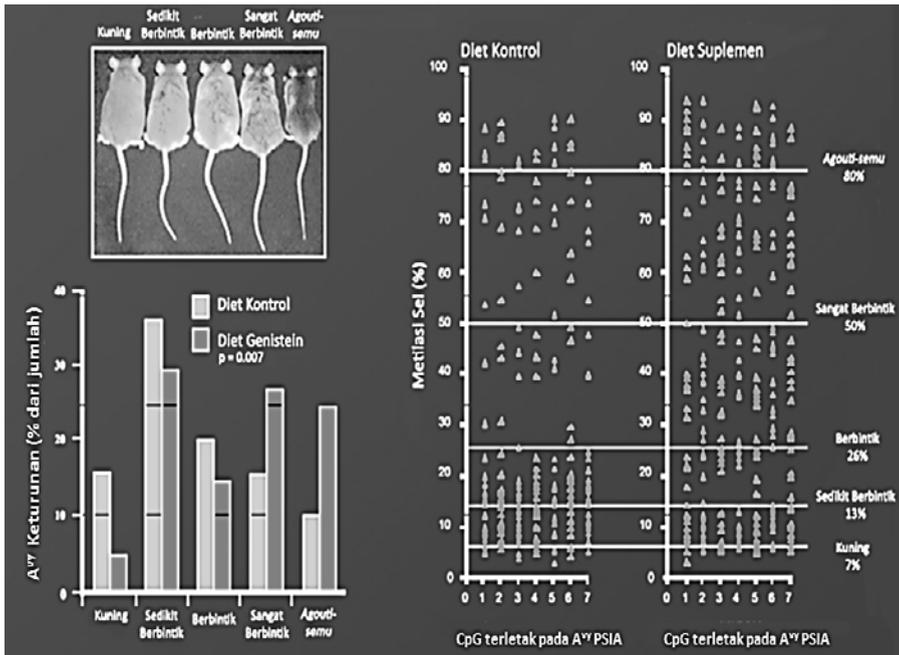


Gambar 51. Dampak Epigenetik Pangan Fungsional terhadap Obesitas

## Perubahan bentuk tubuh dan kecerahan bulu pada tikus

Secara molekuler, bukti-bukti empiris dari pengaruh pangan fungsional terhadap epigenetika dari makhluk hidup dibuktikan pada tikus Agouti yang diberi asupan pakan yang berbeda (Dolinoy, 2006). Tikus Agouti yang mendapat ransum kaya akan protein genistein yang berasal dari kedelai akan memiliki kecenderungan berbulu lebih gelap, bertubuh lebih kecil, dan memiliki faktor risiko terkena kanker dan diabetes yang berbeda dibandingkan tikus Agouti kontrol. Secara langsung, tikus Agouti yang mendapat ransum kaya akan genistein akan mengalami proses metilasi di tingkat seluler.

Lebih lanjut, tikus Agouti yang kekurangan genistein akan berbulu lebih cerah, cenderung obesitas, dengan risiko diabetes yang meningkat akibat kekurangan metilasi di tingkat seluler. Sebaliknya, tikus Agouti yang mengalami kelebihan asupan genistein akan berbulu lebih gelap dan cenderung bertubuh kecil. Ini berarti secara empiris, metilasi di tingkat seluler dipengaruhi oleh protein fungsional genistein yang berasal dari kedelai.

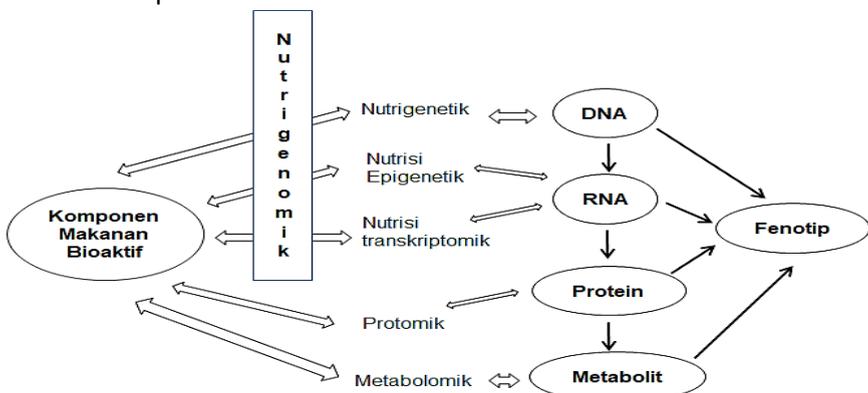


**Gambar 52. Perubahan Warna dan Ukuran Tubuh Tikus Agouti sebagai Pengaruh Perbedaan Asupan Genistein**

Diketahui lebih lanjut bahwa, tidak hanya genistein yang berpengaruh terhadap perubahan fisiologis dan biologis tikus. Akan tetapi, pangan yang mengandung komponen fungsional Seng (Zn), metionin, betain, folat, kolin, dan vitamin B<sub>12</sub> secara signifikan akan mengubah penampakan fisiologis dan risiko terhadap penyakit dari tikus. Tikus yang kurang mengonsumsi senyawa-senyawa tersebut akan cenderung mengalami obesitas, memiliki kesempatan hidup lebih pendek dan lebih mudah terkena diabetes, kanker, dan penyakit degeneratif lainnya (Cooney *et al*, 2002; Waterland dan Jirtle, 2003).

## Hubungan Epigenetik dengan Bidang Ilmu Lain

Epigenetika erat kaitannya dengan bidang ilmu nutrisi, di mana saat ini komponen bioaktif pangan banyak mendapatkan porsi pembahasan di dalam nutrigenomik. Induk ilmu nutrigenomik melingkupi nutrigenetik, yaitu menjelaskan mode aksi komponen bioaktif pangan terhadap perubahan DNA yang melahirkan ekspresi gen dan fenotipe yang berbeda pada mahluk hidup. Ilmu Nutrisi Epigenetik membahas peranan komponen bioaktif terhadap transkripsi DNA ke dalam RNA yang kemudian mempengaruhi perubahan fenotipe mahluk hidup. Pengaruh komponen bioaktif pangan terhadap translasi dan modifikasi pasca-translasi protein dibahas dalam keilmuan proteomik. Ilmu tentang metabolomik banyak membahas peranan komponen bioaktif pangan terhadap produksi metabolit yang berdampak pada perubahan fenotipe mahluk hidup.



**Gambar 53. Keterkaitan Epigenetika dengan Bidang-Bidang Keilmuan Lain**

*“Pada akhirnya, Anda adalah apa yang Anda konsumsi”*

# Pengeringan Produk Pangan Fungsional

**Anton Rahmadi, Herry Setiawan, Ary Susanto, Desy Nursayekti, dan  
Wiwit Murdianto**

## Pendahuluan

Pengeringan adalah yang cara pengawetan tertua terhadap bahan pangan. Dasar proses pengeringan adalah terjadinya penguapan air ke udara karena perbedaan kelembaban relatif antara udara dengan bahan yang dikeringkan (Peglow *et al*, 2009). Proses ini penting untuk mengawetkan bahan baku pangan fungsional dan sediaan obat-obatan herbal dalam bentuk sederhana. Tujuan utama dalam produk pengeringan adalah pengurangan kadar air ke tingkat yang memungkinkan penyimpanan yang aman selama beberapa lama. Penurunan kadar air sampai batas tertentu dapat memperlambat laju kerusakan bahan akibat aktivitas biologis dan kimia sebelum bahan diolah (Adiletta *et al*, 2013). Prinsip pengawetan yang hendak dicapai dengan pengeringan adalah pengurangan aktivitas air dari suatu bahan sehingga enzim dalam bahan tersebut berhenti bekerja dan membuat bahan tersebut lebih awet (Rahmadi *et al*, 2017).

Proses pengeringan merupakan langkah awal yang memudahkan aplikasi produk ke bentuk-bentuk yang lebih luas. Secara garis besar,

pengeringan dapat dibedakan atas pengeringan alami dan pengeringan buatan. Pengeringan secara alami dapat dilakukan dengan penjemuran di bawah sinar matahari, sedangkan pengeringan buatan dilakukan dengan menggunakan alat pengering mekanis (Rahmadi *et al*, 2016b). Pada umumnya, pengeringan yang digunakan adalah pengeringan matahari, karena biaya operasional yang murah (Hii *et al*, 2008).

Dalam prosesnya pengeringan membutuhkan sumber panas, baik dari sinar matahari atau panas buatan dengan *heater* atau menggunakan *microwave*. Permasalahan pokok pengeringan dengan sinar matahari adalah pada kestabilan laju pengeringan akibat suhu yang berubah-ubah selama proses pengeringan (Bal *et al*, 2010). Alat pengering dengan kelembaban relatif yang rendah akan efektif untuk mengeringkan bahan, karena uap air dari bahan akan lepas ke udara pengering, untuk selanjutnya dibuang ke luar sistem (Fudholi *et al*, 2013).

Parameter-parameter yang mempengaruhi waktu pengeringan adalah suhu, kelembaban udara, laju aliran udara, kadar air awal dan kadar air bahan kering (Hii *et al*, 2008). Parameter lain dari sistem pengeringan bahan baku pangan fungsional dan obat-obatan herbal adalah bahwa suhu udara panas diusahakan tidak melebihi 60 °C dalam jangka waktu lama, atau bahan akan menjadi lebih kecoklatan dan komponen antioksidan di dalamnya akan rusak (Rahmadi *et al*, 2016b).

Pengeringan adalah langkah selanjutnya sebelum pengepakan dan pengangkutan ke produsen pangan maupun obat-obatan herbal. Bahan baku yang datang akan melalui proses, pembersihan dan grading untuk menghilangkan bagian-bagian yang tidak diinginkan, termasuk cemaran dan logam. Jarak waktu dari penyedia bahan baku ke pabrik pengolahan merupakan masalah penting karena memungkinkan adanya kontaminasi mikroba (ICMSF, 2005).

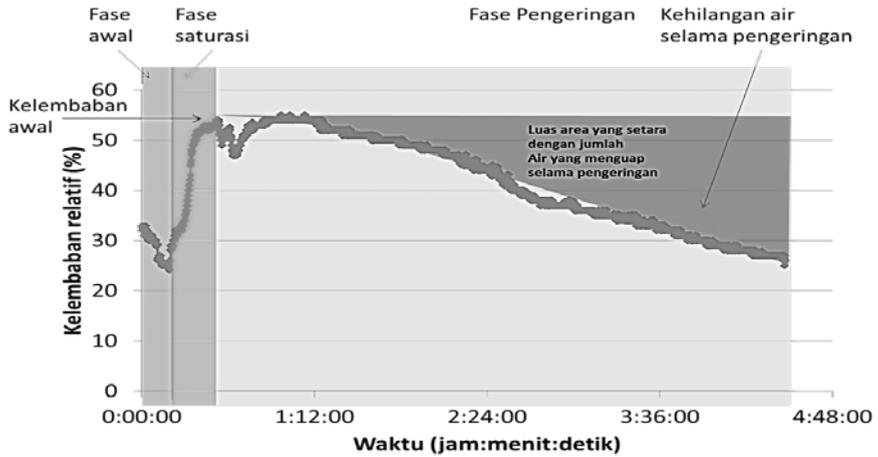
### Prinsip Pengeringan

Mekanisme pengeringan dapat dijelaskan dengan tahapan, yaitu: (i) air yang diuapkan terdiri dari air bebas dan air terikat, (ii) air bebas berada di permukaan dan yang pertama kali mengalami penguapan, (iii) bila air permukaan telah habis, maka terjadi migrasi air dan uap air dari bagian dalam bahan secara difusi, (iv) migrasi air dan uap air terjadi karena perbedaan konsentrasi atau tekanan uap pada bagian dalam dan bagian luar bahan (Setiawan, 2015).

Proses pengeringan pada prinsipnya menyangkut proses pindah panas dan pindah massa yang terjadi secara bersamaan atau simultan. Pertama, panas harus ditransfer dari medium pemanas ke bahan. Selanjutnya, setelah terjadi penguapan air, uap air yang terbentuk harus dipindahkan melalui struktur bahan ke medium sekitarnya. Proses ini

akan menyangkut aliran fluida di mana cairan harus ditransfer melalui struktur bahan selama proses pengeringan berlangsung (Rahmadi *et al*, 2016a). Panas harus disediakan untuk menguapkan air dan air harus mendifusi melalui berbagai macam tahanan agar supaya dapat lepas dari bahan dan berbentuk uap air yang bebas. Lama proses pengeringan tergantung pada bahan yang dikeringkan dan cara pemanasan yang digunakan (Setiawan, 2015).

Proses pengeringan adalah proses yang tidak efisien dan memerlukan energi dalam jumlah yang besar. Evaporasi atau penguapan air terjadi berdasarkan prinsip pemindahan uap air dari bahan ke media, dalam hal ini adalah udara kering. Pada kondisi basah, uap air dari produk akan menguap dengan cepat sehingga memenuhi ruang pengering, ini disebut dengan fase saturasi. Fase selanjutnya adalah fase pengeringan di mana secara perlahan uap air berpindah dari bahan baku ke media, sehingga kelembaban relatif di dalam alat pengering akan turun hingga tercapai kondisi optimum yang ditentukan dari kinerja alat pengering (Gambar 1).



**Gambar 54. Proses Evaporasi Air yang Terjadi selama Proses Pengeringan**

### Titik Kritis Proses Pengeringan

#### Kadar Air dan Aktivitas Air

Kadar air suatu bahan baku pangan fungsional dan obat-obatan herbal akan secara langsung mempengaruhi umur simpan produk. Kadar air merupakan parameter intrinsik bahan yang secara langsung mempengaruhi nilai aktivitas air bahan tersebut. Kecepatan pertumbuhan mikroba, aktivitas enzim, dan oksidasi protein dan lipida dapat dipengaruhi oleh aktivitas air bahan. Sebagai contoh adalah bahan baku pangan fungsional yang berasal dari biji kakao. Karena produsen utama biji kakao adalah dari negara-negara tropis yang memiliki kelembaban tinggi, proses pengeringan menjadi tahap penting dalam menghasilkan biji kualitas tinggi dan menghindari pertumbuhan jamur.

Batas maksimum kadar air untuk biji kakao ditetapkan sebesar 8% dengan tingkat yang direkomendasikan menjadi 6-7% RH (Rahmadi, 2007).

### Inaktivasi Enzim

Beberapa enzim tetap bekerja setelah bahan baku dipanen. Sebagai contoh, *2-oxoglutarate dioxygenase* adalah enzim yang bertanggung jawab dalam produksi gas etilene dan *2-oxoglutarate* atau *L-arginine monooxygenase* atau *decarboxylase* adalah enzim yang bertanggung jawab dalam produksi asam suksinat. Aktivitas enzim penyebab pencoklatan seperti polifenol oksidase (PPO) juga dipengaruhi oleh aktivitas air dari bahan baku pangan fungsional dan obat-obatan herbal. Selama tahap pengeringan, aktivitas peroksidase meningkat nyata. Produksi peroksidase yang berlebih akan memicu stres dan dapat mengubah kualitas bahan baku. Salah satu efek yang dirasakan adalah perubahan rasa pahit dan *astringency*. Beberapa cara dilakukan di dalam pengeringan bahan baku, misalnya dengan melakukan proses pra-pemanasan, blansir, dan perendaman pada suhu dan waktu tertentu (Rahmadi, 2007).

## Rehidrasi

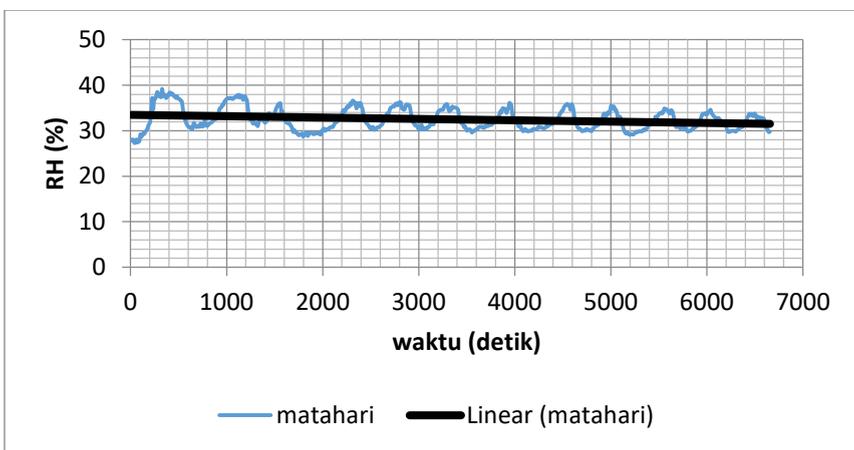
Di daerah yang memiliki kelembaban tinggi seperti daerah tropis, biji kering akan cepat menyerap air dari lingkungan. Oleh karena itu, bahan baku pangan fungsional dan obat-obatan herbal mudah terkontaminasi jamur. Titik kritis kadar air produk adalah 8%, sedangkan kondisi terbaik untuk menyimpan bahan baku hasil fermentasi adalah antara 6 - 6,5% (Rahmadi, 2007). Perubahan rasa selama pengiriman bahan baku dari daerah iklim yang berbeda dapat terjadi dan tergantung pada bahan kemasan serta cara mengemasnya. Pada kemasan pallet (kuantitas kecil), bahan baku pangan fungsional dan obat-obatan herbal kering dapat mengalami penurunan kelembaban relatif tetapi tidak sampai mempengaruhi rasa. Sementara dalam pengiriman dalam jumlah besar, bahan baku pangan fungsional dan obat-obatan herbal kering dapat mengalami perubahan rasa karena kelembaban relatif meningkat. Pada intinya, rehidrasi terjadi apabila kemasan yang digunakan tidak sesuai, bocor, tipis, ataupun sifat bahannya mengizinkan adanya difusi oksigen dan uap air dari dan ke dalam produk.

## Pengeringan Matahari dan Buatan

Pengeringan bahan menggunakan sinar matahari tidak dapat menjaga kestabilan hasil produk. Hal ini karena sinar matahari tergantung

pada cuaca, sehingga waktu pengeringan produk akan berbeda-beda. Perubahan cuaca mengakibatkan intensitas cahaya matahari yang digunakan untuk pengeringan bahan berfluktuasi dan tidak terprediksi, sehingga mempengaruhi laju produksi dan kualitas mutu bahan hasil pertanian.

Pengeringan udara terbuka (panas), adalah metode terpopuler untuk mengeringkan bahan baku pangan fungsional dan obat-obatan herbal. Namun, pengeringan udara terbuka memerlukan waktu yang lama dan menyebabkan kontaminasi debu dan serangga. Penggunaan alat pengering buatan dapat dijadikan pengganti pengeringan terbuka ini. Akan tetapi, alat pengering buatan memerlukan modal dan biaya operasinal yang tinggi sehingga tidak bisa digunakan di perkebunan skala kecil.

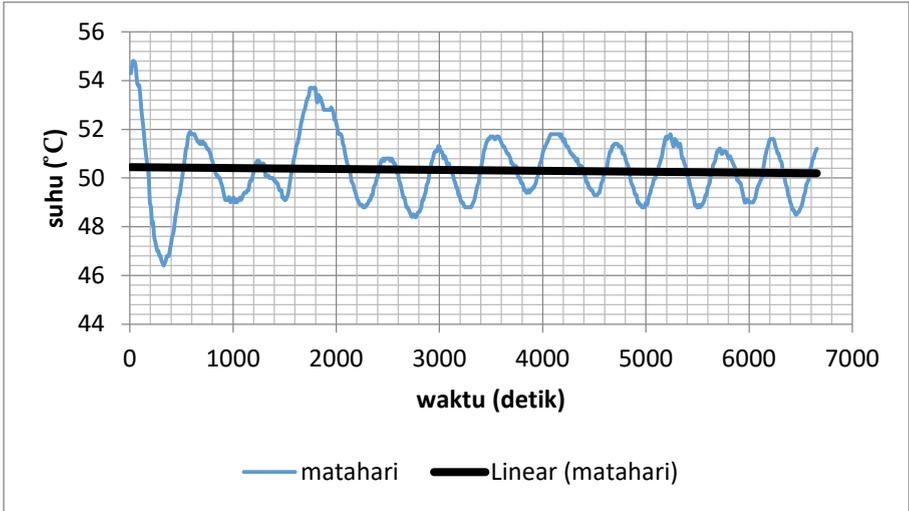


**Gambar 55. Grafik Penurunan RH pada Pengeringan Daun Pandan dengan Sinar Matahari**

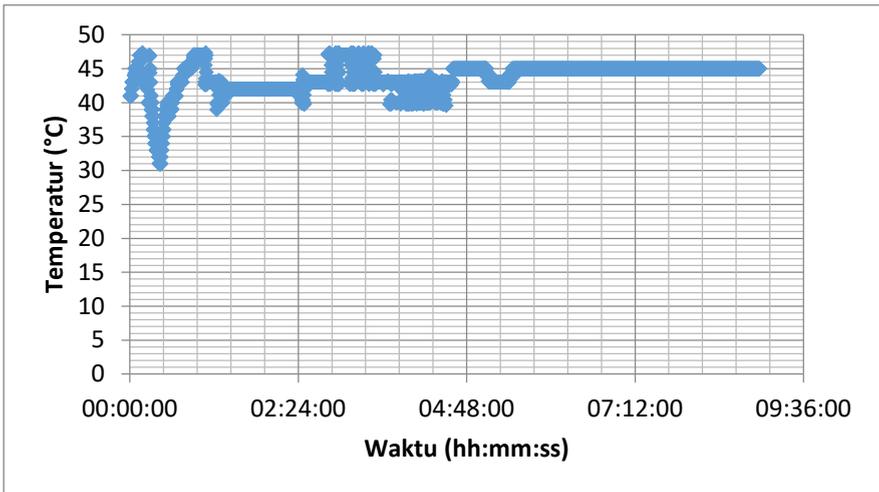
Taufik (2004) menyatakan bahwa laju pengeringan meningkat seiring kenaikan suhu pengeringan. Kenaikan suhu pengeringan meningkatkan energi panas yang dibawa oleh udara dan meningkatkan jumlah massa cairan yang diuapkan dari permukaan bahan. Kenaikan suhu pengeringan akan menaikkan suhu bahan sehingga tekanan uap air dalam bahan menjadi lebih tinggi daripada tekanan uap air di udara dan menyebabkan perpindahan uap air dari bahan ke udara.

Pada awal proses pengeringan, kelembaban udara masih tinggi akibat banyaknya air yang menguap dari partikel, kemudian menurun hingga akhir proses pengeringan karena air yang teruapkan semakin sedikit. Semakin tinggi suhu udara, maka kandungan uap air di udara semakin berkurang karena kapasitas penguapan air yang meningkat sedangkan jumlah air yang ada di udara semakin sedikit (Riska *et al.*, 2013).

Pada pengeringan chips jahe menggunakan prototipe alat pengering desain Santoso (2014) dibutuhkan waktu sekitar 8-10 jam pada suhu pengeringan 45°C. Pengeringan chips jahe berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya membutuhkan waktu 6-8 jam di bawah suhu 60°C secara konstan.



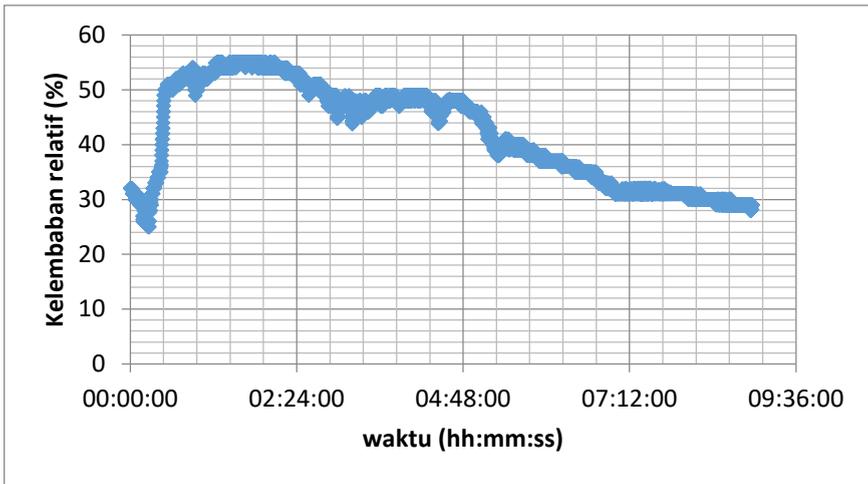
**Gambar 56. Grafik Perubahan Suhu selama Proses Pengeringan Daun Pandan dengan Sinar Matahari**



**Gambar 57. Konsistensi Suhu dari Rumah Pengering dalam Proses Pengeringan Cip Jahe**

Pada Gambar 57, desain wadah pengering maupun kontrol konveksi udara di dalam wadah pengering terlihat cukup efektif. Kelembaban udara naik dikarenakan adanya pemanasan bahan yang

mengeluarkan uap air, sedangkan suhu di dalam wadah juga ikut naik tetapi saat di puncak kelembaban suhu menurun menyesuaikan konveksi udara. Ini berarti rumah pengering skala mini ini cukup efektif dalam pengeringan umbi jenis cip jahe. Kefektifan penurunan kadar air mencapai 80%.



**Gambar 58. Kelembaban Relatif Pengeringan Cip Jahe**

Pada umumnya, kendala teknis alat pengering buatan adalah suplai listrik dan biaya operasional yang ekonomis. Suplai listrik berfungsi untuk mengoperasikan kipas dan elemen pemanas. Bila listrik padam saat proses pengeringan maka proses pengeringan yang sedang dilakukan akan terhenti dan produk menjadi rentan rusak. Saat listrik padam suhu udara di dalam alat pengering akan turun drastis hingga sama dengan suhu ruangan, sehingga produk akan mengalami rehidrasi. Permasalahan lainnya adalah kapasitas alat pengering yang perlu disesuaikan dengan

volume dan massa bahan yang akan dikeringkan. Apabila terjadi kelebihan kapasitas, maka akan terjadi risiko kurang suplai udara panas alat pengering, sehingga membuat bahan yang ada dalam wadah menjadi lambat mengering dan waktu yang digunakan menjadi lebih lama.

### Model Laju Pengeringan

Laju pengeringan dalam sistem kontinu dilakukan dengan mengukur kelembaban relatif yang didapatkan dari data sensor dalam sistem pengering, karena metode ini lebih cepat dan efektif dibandingkan dengan mengukur bobot bahan selama proses pengeringan (Peglow *et al*, 2009). Model Lewis atau disebut juga metode sederhana merupakan salah satu permodelan yang digunakan untuk mengukur laju pengeringan berdasarkan kelembaban relatif yang dihasilkan oleh sensor di alat pengering (Efremov, 2013). Penggunaan Model Lewis dicontohkan oleh Muhandri *et al* (2015) yang memodelkan laju pengeringan *sphagetti* jagung dengan model Lewis. Hasil dari permodelan tersebut didapatkan korelasi antara laju pengeringan dan kelembaban relatif dengan ( $r$ ) berkisar mulai 0,69 sampai 0,92. Model Page digunakan apabila Model Lewis kurang mampu menghasilkan korelasi ( $r$ ) yang kuat antara waktu pengeringan terhadap  $\ln(-\ln(MR))$ .

Alat pengering yang digunakan adalah hasil penelitian fundamental dari penulis pertama (Rahmadi *et al*, 2016) dibantu oleh Setiawan (2015). Sensor pengukur kelembaban relatif yang digunakan adalah DHT22 dengan sensitivitas 0 s.d.100% dan akurasi  $\pm 5\%$  (Saptadi, 2014). Pengeringan bertenaga hibrid matahari dan elemen pengering bertenaga listrik (104 W, suhu kerja maksimum 60 °C) digunakan pada daun pandan. Data diperoleh dengan mengirimkan hasil pembacaan sensor DHT22 ke komputer monitor setiap 5-10 detik yang kemudian diolah dengan beberapa model laju pengeringan.

Laju pengeringan atau laju penguapan air dalam berbagai penelitian yang telah dilakukan (Rahmadi *et al*, 2016; Muhandri *et al*, 2015; Gunhan *et al*, 2005) terjadi secara eksponensial. Untuk itu, laju pengeringan perlu didekati dengan permodelan menggunakan log natural dari nilai kelembaban relatif. Permodelan ini dibantu dengan analisis statistik yakni korelasi untuk memastikan bahwa model-model tersebut layak untuk digunakan. Kashaninejad *et al* (2007) menjelaskan penggunaan model Lewis seperti transfer uap air dari bahan yang dikeringkan yang dimodelkan menyerupai dengan aliran panas dari tubuh manusia atau hewan hidup yang direndam dalam cairan dingin. Model ini disusun dengan asumsi bahwa hambatan internal diabaikan, atau tidak ada insulasi panas terhadap gerakan air dari dalam bahan ke permukaan

material. Lebih lanjut, Kashaninejad *et al* (2007) menggunakan model *Page* yang dikembangkan akibat keterbatasan model Lewis dalam menjelaskan laju pengeringan pada bahan-bahan tertentu. Model ini dikembangkan dengan dua nilai konstan, yakni  $k$  dan  $n$ . Nilai  $n$  dapat dikembangkan menjadi sebuah fungsi tersendiri, misalnya merupakan fungsi kecepatan aliran udara dan suhu (Rahmadi *et al*, 2016).

Untuk mengukur  $MR$  digunakan persamaan (1) yang terdiri dari nilai kelembaban pada detik ke- $i$  ( $M_i$ ) dikurangi dengan nilai kelembaban pada kondisi setimbang ( $M_e$ ). Hasil ini kemudian dibagi dengan nilai yang diperoleh dari pengurangan nilai kelembaban awal ( $M_o$ ) terhadap  $M_e$  (Boubekri *et al*, 2009).

$$MR = \frac{M_i - M_e}{M_o - M_e}$$

(Persamaan 1)

Model Lewis secara umum dapat dilihat pada persamaan (2).

$$MR = e^{-k \cdot t}$$

(Persamaan 2)

Setelah diturunkan, maka, nilai logaritma natural dari  $MR$  akan berbanding lurus dengan kemiringan ( $-k$ ) terhadap waktu pengeringan (Persamaan 3)

$$\ln(MR) = -k \cdot t$$

(Persamaan 3)

Model Page didapatkan dengan menurunkan persamaan (3) lebih lanjut, sehingga diperoleh persamaan (4)

$$\ln(-\ln(MR)) = \ln(k) + n \cdot t$$

(Persamaan 4)

**Tabel 10. Laju Pengeringan beberapa Bahan Baku Herbal dengan Model Lewis dan Page**

Jenis bahan	Suhu (°C)	Nilai		Persamaan	Korelasi (r)
		Mo	Me		
Metode Pengeringan Hibrid Matahari-Listrik					
Pandan (daun)	50	39,2	27,3	$\ln(MR) = -0,014 t$ $\ln(-\ln(MR)) = 0,0069 t - 0,6098$	-* 0,33
Metode Pengeringan Simulasi Tenaga Matahari					
Pandan (daun)	50	50,7	26,4	$\ln(MR) = -0,0094 t$	0,98
Mandai	50	62,7	27,0	$\ln(MR) = -0,0032 t$	0,90
Mandai	45	49,7	40,7	$\ln(MR) = -0,0021 t$	0,96

\* nilai korelasi (r) tidak dapat diperoleh karena  $r^2$  bernilai negatif

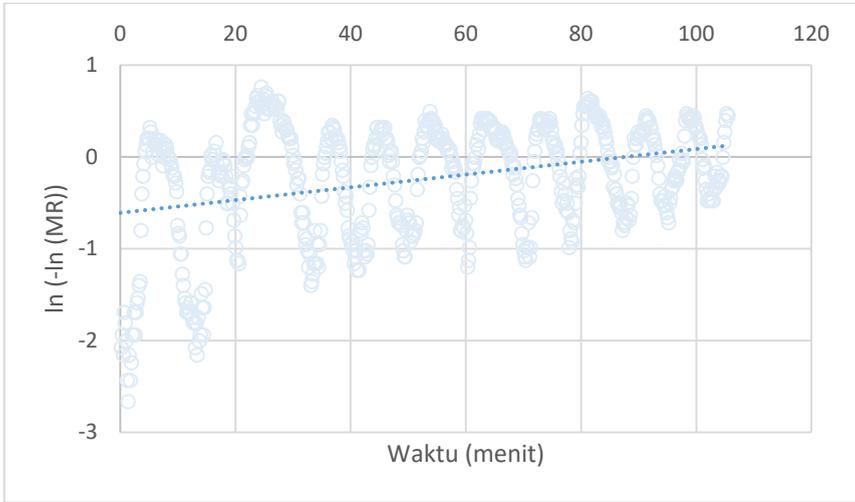
Sumber: Rahmadi *et al* (2017)

Menurut Gunhan *et al* (2005), faktor utama yang menentukan kecepatan pengeringan adalah suhu udara panas yang digunakan. Semakin tinggi selisih suhu yang digunakan, pengeringan akan berlangsung semakin cepat. Hasil Gunhan *et al* (2005) ini senada dengan hasil Muhandri *et al* (2015) yang menyatakan bahwa dalam pengeringan *sphagetti* jagung, nilai  $k$  pada suhu pengeringan 41 °C adalah lebih kecil dibandingkan pada suhu 63 °C. Rahmadi *et al* (2016) menyatakan bahwa pada suhu yang lebih rendah, nilai koefisien  $k$  adalah lebih rendah,

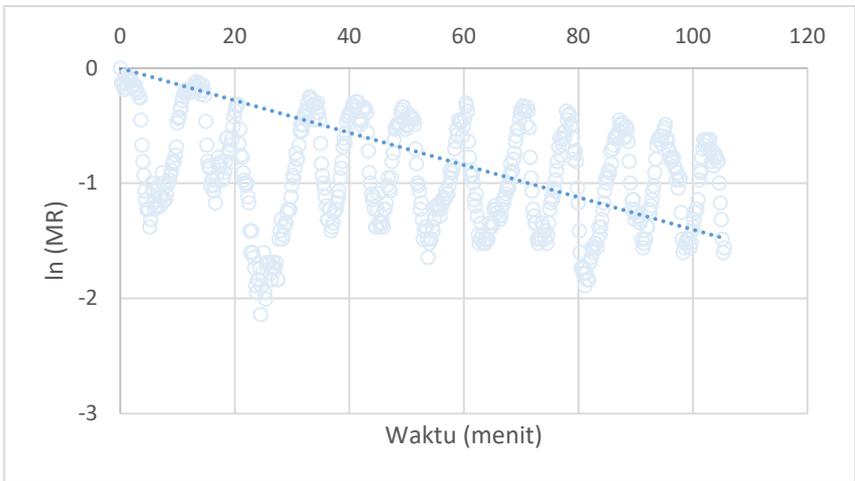
sehingga grafik regresi linier yang dihasilkan lebih landai. Akibatnya adalah penguapan uap air dari bahan berlangsung lebih lambat dibandingkan pada suhu lebih tinggi (Tabel 10).

Rahmadi *et al* (2016a) menyatakan bahwa pengeringan daun pandan dengan simulasi matahari dan listrik dapat didekati dengan sangat baik ( $r=0,98$ ) menggunakan model Lewis, yaitu  $\ln (MR) = -0,0094 t$  (Tabel 1). Pengeringan dengan kombinasi sinar matahari dan elemen pengering untuk daun pandan lebih tepat untuk didekati dengan model *Page*, yaitu  $\ln (-\ln (MR)) = 0,0069 t - 0,6098$ , dengan nilai korelasi ( $r$ ) = 0,33. Seiring dengan hasil ini adalah hasil penelitian Muhandri *et al* (2015), di mana model *Page* untuk laju pengeringan akan meningkatkan korelasi ( $r$ ) antara waktu pengeringan terhadap nilai  $\ln (-\ln (MR))$ . Penerapan model yang berbeda dilakukan saat model Lewis tidak mampu menjawab pendekatan permodelan laju pengeringan yang dihasilkan dalam percobaan (Gambar 59).

A



B



**Gambar 59. Grafik Pengeringan Daun Pandan dengan Hibrid Matahari dan Listrik**

Keterangan:

- Model Page  $\ln(MR)$  pengeringan daun pandan dengan hibrid matahari-listrik,
- Model Lewis  $\ln(-\ln(MR))$  pengeringan daun pandan dengan hibrid matahari dan listrik

## Pengaruh Pengeringan pada Komponen Pangan Fungsional

Pengeringan merupakan salah satu faktor penentu komposisi bahan, utamanya kandungan penyusun aktivitas antioksidan dari golongan fenol, tanin, dan antosianin.

### Polifenol

Rahmadi *et al* (2016) menyatakan bahwa setiap buah memiliki preferensi metode pengeringan yang berbeda. Sebagai contoh, dengan teknik yang sama yaitu dikeringbekukan (*freeze dried*), jambu mengalami perubahan warna yang minimal, akan tetapi pepaya akan berubah menjadi lebih pucat (Hawlder, 2006). Perubahan pigmen warna yang merupakan bagian dari senyawa polifenol dalam pengolahan pasca panen dapat dipengaruhi oleh metilasi, glikosilasi, asetilasi dan pigmen (Provenzano *et al*, 2014). Enzim yang terlibat dalam oksidasi seperti polifenol oksidase (PPO) memiliki peran terbatas dalam menurunkan kadar antosianin, karena memiliki gugus glikosida yang kemudian terlibat dalam proses glikosidasi (Madrau *et al*, 2009). Proses lain yang diamati Devic *et al* (2010) adalah asidolisis yang dapat menyebabkan degradasi komponen proasianidin dan antosianin.

Madrau *et al* (2009) menyebutkan bahwa polifenol pada buah aprikot seperti asam hidrosinamat dan katekin mengalami degradasi

oksidatif karena enzim PPO masih mampu bertahan pada suhu pengeringan hingga 60 °C. Ketahanan enzim PPO merupakan obyek yang diteliti Devic *et al* (2010), di mana kinetika penurunan polifenol pada dua suhu pengeringan yaitu 45 dan 65 °C dari dua kultivar apel mengalami perbedaan. Kecepatan degradasi polifenol dapat diukur dengan marker prosianidin, katekin, dan asam hidrosinamat. Kecepatan degradasi ditentukan dari dua faktor yaitu suhu dan waktu. Pada pengeringan apel, faktor yang utama adalah suhu pengeringan. Prosianidin dan antosianin pada apel lebih tahan terhadap panas dibandingkan kedua marker polifenol yang lain. Ini diduga karena proteksi alamiah dari kadar gula cukup tinggi. Dalam penelitian yang dilakukan Rahmadi *et al* (2016b), perlakuan suhu dan lama pengeringan berpengaruh nyata terhadap total fenol kulit buah bengalun (Tabel 12).

Selain pada polifenol, senyawa aktif lain juga terdampak oleh proses pengeringan. Sebagai contoh, pengeringan jahe yang diikuti dengan ekstraksi menggunakan pelarut air akan menurunkan kandungan komponen aktif 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol, dan 6-shogaol (Lee *et al*, 2007). Ini dapat disebabkan oleh kerusakan bahan akibat pengeringan dan penggunaan pelarut air yang kurang tepat untuk digunakan dalam proses ekstraksi jahe (Tabel 11).

**Tabel 11. Konsentrasi Komponen Gingerol Analit dari Jahe**

Matriks	Rata-rata konsentrasi, mg/g $\pm$ RSD, %a			
	6-Gingerol	8-Gingerol	10-Gingerol	6-Shogaol
Tanaman segar	9,3 $\pm$ 0,8	1,6 $\pm$ 0,5	2,3 $\pm$ 1,1	2,3 $\pm$ 1,0
Ekstrak air yang dikeringkan	1,8 $\pm$ 2,0	0,1 $\pm$ 3,8	0,2 $\pm$ 4,1	2,9 $\pm$ 1,7

\* n = 7

Sumber: Lee *et al* (2007)

## Vitamin C

Kandungan vitamin C dipengaruhi oleh proses dan metode pengeringan. Vitamin C termasuk komponen yang labil dan menjadi indikator degradasi antioksidan larut air (Rahmadi *et al*, 2016b). Penurunan kadar vitamin C adalah disebabkan degradasi oksidatif yang bersifat *irreversible* (Vega-Gálvez *et al*, 2009). Pengeringan juga akan menyebabkan penurunan konsentrasi vitamin C, dengan kerusakan terkecil diperoleh pada pengeringan dengan pembekuan (*freeze drying*) (Santos dan Silva, 2008). Proses pengeringan matahari yang umum dilakukan sebagai cara pengeringan termurah akan memberikan dampak penurunan vitamin C yang tinggi. Ini terjadi sebagai akibat paparan cahaya ultraviolet dan inframerah yang mengoksidasi vitamin C (Zhou *et al*, 2016). Efek dari paparan suhu pengeringan dapat terlihat dimulai pada 50 °C, di mana pengeringan pada suhu tersebut akan mengurangi kadar vitamin C hingga 75 % untuk buah *blueberry* (Lopez *et al*, 2010). Perhitungan kinetika penurunan kadar vitamin C pada kombinasi waktu

dan suhu pengeringan biasanya mengikuti persamaan ordo pertama dengan suhu sebagai faktor utama (Marfil *et al*, 2008).

**Tabel 12. Pengaruh Interaksi Suhu dan Waktu Pengeringan terhadap Vitamin C dan Fenol pada Kulit Buah Bengalun**

Perlakuan	Vit. C (mg/100 g)	Fenol (mg GAE/Kg)
40°C, 8 jam	55,7±11,5 <sup>a</sup>	713±17 <sup>a</sup>
40°C, 10 jam	62±7 <sup>a</sup>	850±13 <sup>b</sup>
40°C, 12 jam	77,9±13,1 <sup>b</sup>	816±18 <sup>db</sup>
50°C, 8 jam	71,8±3,6 <sup>a</sup>	861±17 <sup>c</sup>
50°C, 10 jam	85,6±2,5 <sup>b</sup>	980±7 <sup>e</sup>
50°C, 12 jam	83,7±20,8 <sup>b</sup>	1.068±3 <sup>f</sup>
60°C, 8 jam	76,9±3 <sup>b</sup>	1.112±8 <sup>g</sup>
60°C, 10 jam	79,4±4,2 <sup>b</sup>	883±10 <sup>c</sup>
60°C, 12 jam	82,1±8,7 <sup>b</sup>	1.039±20 <sup>h</sup>

Keterangan: angka yang sama menandakan tidak berbeda nyata pada taraf  $\alpha$  5%

Sumber: Rahmadi *et al* (2016b)

## Karotenoid

Pengolahan bahan tanaman dengan perlakuan termal Umumnya menyebabkan hilangnya senyawa biologis aktif, termasuk di dalamnya karotenoid, tokoferol, dan klorofil. Beberapa perbedaan efek pemanasan dan pengeringan untuk karotenoid diperoleh berdasarkan variasi suhu, waktu dan metode perlakuan termal yang diaplikasikan. Sebagai contoh, pemanasan singkat seperti blansir dapat meningkatkan hasil ekstraksi komponen pembentuk pigmen karena biasanya panas yang singkat akan

melepaskan pigmen dari bentuk terikatnya. Pada pemasakan buah-buahan dan sayuran untuk kepentingan sehari-hari, secara rata-rata akan mendegradasi sebanyak 8-10 % total karotenoid yang ditemukan baik dalam bentuk  $\alpha$ - dan  $\beta$ -karoten. Pada produk kering, penggunaan oven sekalipun di suhu yang rendah akan merusak zat hijau daun (klorofil) dan pigmen oranye (karoten) secara berturut-turut sebanyak 65 dan 35 % dibandingkan dengan produk segarnya (Divya *et al*, 2012).

Penggunaan metode baru untuk ekstraksi karotenoid mencakup menggunakan *microwave* untuk ekstraksi dan pengeringan bahan baku kaya akan karotenoid. Dari analisis HPLC yang dilakukan Divya *et al* (2012), penggunaan metode gelombang mikro mampu mempertahankan bentuk trans- $\beta$ -karoten, sehingga tidak terisomer menjadi cis- $\beta$ -karoten. Komponen karotenoid lain seperti lutein akan cenderung mengalami degradasi apabila bahan baku dikeringkan dengan menggunakan *microwave*.

## Tokoferol dan Tokotrienol

Tokoferol dan tokotrienol ditemukan di alam dan wujud  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, dan  $\delta$ - yang berbeda dalam jumlah dan posisi grup metil dari cincin kromanolnya. Bentuk yang paling lazim ditemukan adalah  $\alpha$ - dan  $\gamma$ - tokoferol, serta  $\gamma$ -tokotrienol. Rendemen tokoferol dan tokotrienol

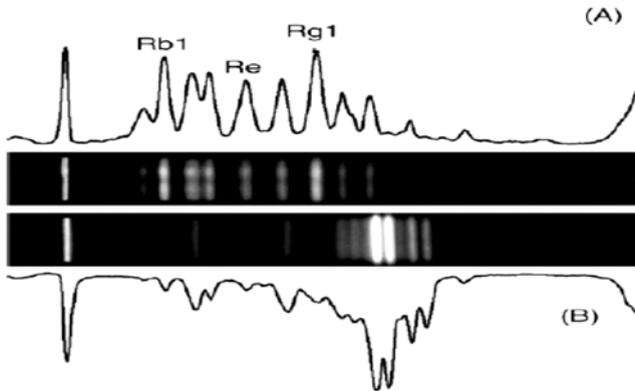
ditentukan oleh sumber bahan, metode pengecilan ukuran, dan jenis solven yang digunakan untuk mengekstrak bahan. Prinsip umum yang berlaku adalah pada bahan sediaan kering, tokoferol dan tokotrienol akan lebih cepat rusak, karena lebih rentan terhadap oksidasi (Winkler *et al*, 2012).

Salah satu cara untuk meningkatkan rendemen dalam proses pengeringan dan pemanasan bahan-bahan yang mengandung tokoferol dan tokotrienol tinggi adalah dengan menambahkan antioksidan kuat seperti asam askorbat (vitamin C) dan *Butylated hydroxy toluene* (BHT). Sebanyak 50% dari kandungan tokoferol dan tokotrienol umumnya hilang dalam proses saponifikasi, ekstraksi, pengeringan, dan pengukuran berbasis kromatografi. Tokoferol dan tokotrienol rentan terhadap pemanasan dalam kondisi alkalis, sehingga untuk meningkatkan rendemen dari proses ekstraksi panas dilakukan dalam solven etil asetat, etanol dan air dengan rasio 1:3:6 (Cing dan Mohamed, 2001).

## Terpenoid

Ginseng kering adalah salah satu bahan baku pangan fungsional dan obat-obatan herbal yang telah lama diperjualbelikan. Kualitas ginseng dapat diuji dengan beberapa metode, misalnya uji kualitatif dan kuantitatif dengan metode kromatografi lapis tipis (Xie, 2006). Setelah

ginseng dikeringkan dan dibuat menjadi ekstrak, komponen-komponen penyusun yang ditemukan di akar segar akan terhidrolisis menjadi triterpen-saponin dan steroid-glikosida (Gambar 60). Ekstrak *Panax ginseng* mengandung komponen triterpen-saponin Rb1, Re, dan Rg1. Akar segar *Panax ginseng* banyak mengandung komponen yang belum terhidrolisis menjadi teriterpen-saponin dan steroid-glikosida (Xie *et al*, 2006)



**Gambar 60. Perbedaan Komponen Penyusun dari *Panax Ginseng* Ekstrak dan Akar Segar**

# Regulasi Pangan Fungsional

**Anton Rahmadi, Kartika Sari, Nikmatul Khoiriyah, dan Desy Nursayekti**

## Latar Belakang perlunya Regulasi

Menjelang akhir tahun sembilan puluhan, penerimaan konsumen yang baik disebut sebagai faktor kunci keberhasilan pemasaran pangan fungsional. Istilah pangan fungsional sendiri pertama kali digunakan di Jepang, pada tahun 1980an, yaitu untuk produk makanan yang diperkaya dengan konstituen khusus yang memiliki efek fisiologis yang menguntungkan. Klaim fungsi nutrisi adalah komponen-komponen yang menggambarkan peran fisiologis nutrisi untuk pertumbuhan, perkembangan, dan fungsi normal tubuh. Sementara klaim fungsional dapat berupa pengurangan klaim risiko penyakit atau kondisi kesehatan tertentu.

Pangan fungsional dapat meningkatkan kondisi umum tubuh dan mengurangi risiko beberapa penyakit. Di antara tren pendukung larisnya produk pangan fungsional adalah dokter, nutrisisionis, dan konsumen telah menyadari dan telah mulai menerima bahwa ada hubungan yang erat antara gizi dan keadaan kesehatan yang ada. Konsumen juga semakin reflektif dalam hal kesehatan dan bersedia untuk mengadopsi perubahan perilaku berorientasi kesehatan dalam kebiasaan makan mereka. Ini

meningkatkan perusahaan kesempatan unik untuk mengembangkan konsep makanan fungsional baru (Siro *et al*, 2008).

**Tabel 13. Contoh Klaim dan Pangan yang Dapat Digunakan sebagai Media Suplementasi atau Fortifikasi**

Klaim Kesehatan		Contoh Pangan Pembawa	
1	Melindungi kerusakan pada kulit dari sinar UV	1	Roti Tawar Coklat
2	Memberikan tenaga tambahan	2	Cokelat
3	Membantu menjaga kadar kolesterol sehat.	2	Permen Karet
4	menjaga penampilan tetap terlihat muda	4	Margarin
5	Memperkuat pertahanan tubuh secara alami terhadap penyakit yang sering terjadi (seperti dingin)	5	Pengganti daging (seperti burger vegetarian atau campuran tumis)
6	Mengurangi risiko beberapa jenis kanker	6	Suplemen
7	Mengurangi risiko osteoporosis	7	Kelompok pangan es krim
8	Mengurangi risiko demensia	8	Kelompok pangan sop atau sayur
9	Mengurangi resiko jantung	9	Kelompok the
10	Mengurangi stres	10	Kelompok pangan asam atau yogurt

Sumber: Siro *et al* (2008)

Produsen makanan umumnya dapat mencantumkan klaim kesehatan di produk baru yang diluncurkan. Pada kondisi saat ini, sebuah perusahaan dapat meluncurkan produk pangan dengan klaim manfaat fungsional yang tidak dapat dibuktikan. Situasi ini umumnya terjadi di negara berkembang, misalkan Indonesia. Kondisi ideal yang harus dicapai adalah ketika semua produsen pangan, termasuk usaha kecil dan menengah, mencantumkan klaim kesehatan yang benar-benar terbukti sebelum produk diluncurkan kepada pelanggan. Produsen makanan dapat mencantumkan klaim kesehatan berdasarkan hubungan pangan dan kesehatan yang telah disetujui oleh regulator. Isi dan format komunikasi akan klaim kesehatan seharusnya dibatasi secara regulasi dengan persyaratan pembuktian ilmiah (Kleef *et al*, 2005).

Menjual pangan fungsional dengan manfaat kesehatan tertentu memiliki peluang tinggi. Hal ini disebabkan pangan dan produk herbal dengan klaim manfaat fungsional akan menambah motivasi konsumen untuk membeli produk dibandingkan dengan produk yang sama tanpa klaim kesehatan. Ini juga dapat meningkatkan persepsi diri konsumen untuk membeli produk, karena harga dan rasa produk mungkin tidak menjadi faktor utama bagi konsumen untuk memilih produk yang akan dikonsumsi. Sebuah studi menemukan produk dengan bahan tambahan yang diklaim menurunkan risiko kesehatan memiliki persepsi niat

pembelian konsumen secara signifikan lebih tinggi dibandingkan produk yang secara tradisional telah mengandung bahan tersebut. Di sisi lain, penjualan pangan fungsional dapat bersifat personal. Produk dengan klaim kesehatan yang berhubungan dengan penyakit pribadi yang relevan dianggap lebih menarik untuk dibeli dibandingkan dengan produk dengan klaim kesehatan yang tidak berhubungan dengan penyakit pribadi (Kleef *et al*, 2005).

### Klaim Khasiat Belum Terverifikasi

Pengguna suplemen sering kali mengonsumsi pangan fungsional tidak dengan sepengetahuan atau saran dari nutritionis ataupun dokter, yaitu saat sebagian besar dari pengguna memperoleh rekomendasi dari pengguna lain yang juga awam. Karena faktor biaya pembuktian khasiat yang besar, sebagian suplemen tidak menjalani uji klinis yang ketat untuk pembuktian efikasi, efek samping, dan interaksi dengan obat-obatan herbal lainnya. Ditemukan banyak tanda tanya terhadap profil khasiat yang tertera pada iklan maupun label dari pangan fungsional (Petroczi *et al*, 2011).

Pangan fungsional yang beredar di Indonesia tidak luput dari penyebutan klaim yang berlebihan. Sebagai contoh, produk herbal yang berbasis kurma. Diantara banyak klaim yang tercatat, kurma digunakan

sebagai bahan ramuan untuk afrodisiak (peningkat libido), analgesik dan antipiretik (penghilang rasa nyeri), anti-racun, anti-asma dan anti-inflamasi (pembengkakan pada saluran pernafasan dan ginjal), anti rabun-senja, anti-mencret. Pada dasarnya, setiap klaim yang diajukan selalu berdasarkan atas efikasi ramuan-ramuan yang terdiri dari banyak ragam bahan pangan dan tumbuhan obat lainnya, sehingga tidak dapat disimpulkan bahwa komponen dalam kurmalah yang berkhasiat obat. Contoh lain, campuran kurma, kuning telur, dan roti hitam dianggap sebagai ramuan peningkat libido apabila dimakan di pagi hari disertai segelas susu atau jus wortel. Klaim kurma mengandung komponen antikanker didasarkan pada kandungan ion tertentu. Kandungan mineral selenium yang tinggi di dalam buah kurma dianggap berpotensi dalam pencegahan penyakit kanker. Akan tetapi, efikasi Selenium terhadap kanker hingga saat ini masih dalam ranah teori dan belum mengalami kemajuan dalam pembuktian keilmiahannya (Rahmadi, 2010).

### Kontaminasi dan Adulterasi

Kontaminasi pada bahan baku pangan fungsional didefinisikan sebagai perbedaan dari informasi komponen bahan baku yang diberikan pada label. Kontaminasi dapat terjadi karena berbagai alasan, mulai dari faktor kesengajaan produsen maupun terjadi karena salah satu atau lebih

dari alasan berikut: (i) mengkontaminasi komponen dan zat yang terkandung dalam bahan baku, (ii) kontaminasi silang dari peralatan yang dipakai untuk produk lain pada proses manufaktur atau pembersihan peralatan yang tidak benar, (iii) kontaminasi pada proses transportasi, termasuk kerusakan pada kemasan dan terjadinya kesalahan prosedur penyimpanan, (iv) konsentrasi yang berbeda dalam suplemen dibandingkan yang tertera pada label, dan atau (v) kontaminasi yang disengaja atau '*spiking*', yang sengaja digunakan untuk meningkatkan efektivitas produk suplemen untuk meningkatkan daya kompetisi (Petroczi *et al*, 2011).

Kontaminasi disengaja didefinisikan sebagai suatu pemalsuan yang disengaja, atau adulterasi. Kesengajaan dapat terlihat dari efek yang dihasilkan dengan adanya kontaminan dari komponen obat-obatan teruji yang secara sengaja ditambahkan pada pangan fungsional dengan tujuan untuk meningkatkan efikasi (Petroczi *et al*, 2011). Terkadang, produsen tidak mengetahui bahwa di tingkat penjual atau distributor, produk mengalami penambahan komponen lain (*tampering*) yang bertujuan agar produk pangan fungsional menjadi lebih laris ketimbang produk pesaing. Kedua jenis kontaminasi ini termasuk dalam tindakan kriminal.

## Penggunaan Bahan Baku Belum Dikenal

Tahun-tahun belakangan, gencarnya upaya pencarian komponen fungsional dan obat-obatan baru telah menyebabkan penggunaan tanaman liar sebagai salah satu sumber sediaan pangan fungsional. Tanaman liar dapat ditemukan diberbagai tempat, namun tidak jarang ada jenis tanaman liar yang di budidayakan. Pembudidayaan tanaman liar sebagai sediaan tanaman obat akan lebih menguntungkan dibanding tanaman yang di dapat langsung dari hutan belantara. Keuntungan tersebut berupa ketersediaan tanaman, dapat dilakukannya manipulasi agronomi serta perbakan genetik untuk meningkatkan kualitas dari tanaman yang dihasilkan, relatif aman dari kemungkinan pencampuran dengan tanaman liar serupa, tingginya kontrol kualitas pada tanaman dan penanganan pasca panen yang selalu baik, fluktuasi pasokan memiliki kualitas yang konstan serta identifikasi botani yang baik. Perbandingan dari penggunaan tanaman liar yang berasal dari hutan belantara dan tanaman hasil budidaya disajikan pada tabel 14.

**Tabel 14. Perbandingan Penggunaan Tanaman Liar yang berasal Dari Hutan Belantara dan Tanaman Hasil Budidaya**

Faktor dipertimbangkan	Tumbuh-tumbuhan	
	Hutan Belantara	Budidaya
Ketersediaan	turun karena perambahan	naik karena dikulturkan
Manipulasi agronomi	tidak terjadi	terjadi
Pencampuran	mungkin terjadi	relatif aman
Identifikasi botani	tidak selalu dapat diandalkan	tidak dipertanyakan
Fluktuasi pasokan	tidak stabil	kualitas konstan
Perbaikan genetik	tidak	Ya
Kontrol kualitas	rendah	tinggi
Penanganan pasca panen	rendah	selalu baik

Bahan baku pangan fungsional yang kurang dikenal atau diteliti memiliki potensi bahaya bagi tubuh, diantaranya:

1. Mengandung racun yang merusak hati, misalnya dari komponen alkaloid, terpen, glikosida, saponin, maupun toksin.
2. Kehadirannya berpotensi beracun konstituen (*apiole*, b-*asarone*, *estragole*, *safrole*, *pyrrolizidine* alkaloid, lektin, glikosida *cyanogentic*, lakton seskuiterpen, dll) dalam obat herbal
3. Penggunaan obat herbal selain obat konvensional
4. Obat herbal yang mengandung banyak tanaman
5. *Automedication*
6. Salah identifikasi tanaman

7. persiapan dan penyimpanan yang tidak memadai
8. Kehadiran kontaminan, mikro-organismes, logam berat, racun mikroba, pestisida, agen fumigasi, radioaktivitas, zat obat sintetik dan hewan.
9. Pemalsuan bahan baku
10. *Mislabelling* dari produk akhir

Beberapa contoh tanaman bahan baku pangan fungsional yang selain memiliki efek positif bagi tubuh, namun pula memiliki potensi berbahaya bagi tubuh dirangkum dalam tabel 15.

**Tabel 15. Contoh Tanaman Bahan Baku Pangan Fungsional dan Potensi Bahayanya.**

Obat Herbal (Tanaman)	Efek samping, toksisitas.	Unsur yang bertanggung jawab
<i>Alfa alfa</i> ( <i>Medicago sativa</i> L.)	Sindroma lupus eritematosa sistemik	Canavaniane
<i>Aloe</i> ( <i>A. barbadensis</i> , <i>A. ferox</i> , etc)	ketidaknyamanan perut, melanosis coli	Antraquinone
<i>Aniseed</i> ( <i>Pimpinella anisum</i> L.)	Dermatitis kontak	Anethole
<i>Artichoke</i> ( <i>Cynara scolymus</i> L.)	Kontak alergi; dermatitis	Sesquiterpene lactones (cynaropicrin)

Obat Herbal (Tanaman)	Efek samping, toksisitas.	Unsur yang bertanggung jawab
Capsicum ( <i>C. annum L.</i> , <i>C. frutescens L.</i> , <i>C. pubescens</i> , <i>Ruis et Paron</i> , etc.)	Alergi alveolitis	Capsaicinoida
<i>Cassia</i> ( <i>Cinnamomum cassia</i> Blume)	Reaksi alergi	Cinnamaldehyda
<i>Chamomile german</i> ( <i>Matricaria recucita</i> L.)	Reaksi alergi; muntah	Sesquiterpene lactones  (anthecotulid); asam antemik
<i>Chamomile roman</i> ( <i>Anthemis nobilis L.</i> )	Reaksi alergi; muntah	Sesquiterpene lactones (nobilin); asam antemik
Rambut Jagung ( <i>Zea Mays L.</i> )	Reaksi alergi	?
Bawang Putih ( <i>Allium sativum L.</i> )	Mual, muntah, diare, Kontak dermatis.	Mengandung komponen sulfur
Ginkgo ( <i>Ginkgo biloba L.</i> )	Gastrointestinal <i>upset</i> , Sakit kepala	?
Ginseng ( <i>Panax ginseng Meyer</i> )	Hipertensi, diarrhoea, insomnia, pendarahan pada vagina, pengikisan kulit, kegugupan	?
Mate ( <i>Ilex paraguariensis St.-Hill.</i> )	Gangguan hati	<i>Xanthine constituents</i>

Obat Herbal (Tanaman)	Efek samping, toksisitas.	Unsur yang bertanggung jawab
Mistletoe ( <i>Viscum album L.</i> )	Hepatitis	<i>Lectins, viscotoxins</i>
<i>Rubarb</i> ( <i>Rheum officinale</i> <i>Baill.</i> )	Ketidaknyamanan perut, Kehilangan elektrolit dan air	<i>Antraquinone</i>
Senna ( <i>Cassia angustifolia</i> <i>Vahl.</i> )	Ketidaknyamanan perut, Kehilangan elektrolit dan air, <i>Melanosis coli</i> , warna kemerahan pada urin	<i>Antraquinone</i>
<i>St. John's wort</i> ( <i>Hypericum</i> <i>perforatum L.</i> )	<i>Photodermatitis</i>	Hipotin

Sumber: (Capasso *et al*, 2000)

Beberapa tanaman tersebut menimbulkan efek samping berupa reaksi alergi seperti pada *Cassia*, *Chamomile german*, *Chamomile roman*, Rambut Jagung dan Bawang Putih. *Aloe* dan *senna* menyebabkan ketidaknyamanan pada perut. Beberapa unsur bertanggung jawab pada efek samping yang ditimbulkan tanaman obat herbal, namun adapula yang belum diketahui unsur apa yang menyebabkan efek samping tersebut timbul, contohnya seperti pada Rambut Jagung, Ginkgo dan Gingseng.

## Pangan Fungsional Lokal sebagai Daya Saing Bangsa

Keberadaan pangan fungsional telah lama dijumpai di Indonesia sebagai bentuk dari kekayaan dan warisan budaya bangsa. Pengenalan akan pangan fungsional lokal dan jejaman adalah berdasarkan konsep akan kesempurnaan manusia, atau dikenal dengan istilah Tri hita karena dalam budaya Bali.

Regulasi yang disusun oleh Pemerintah Indonesia adalah berpedoman pada prinsip:

1. Perdagangan pangan dunia semakin terbuka (*borderless*)
2. Tuntutan perdagangan bebas yang adil (*fair trade*)
3. Standar dan peraturan terkait *food safety and quality* sebagai *non-tariff barrier*
4. Regulasi tidak boleh diskriminasi

Pemberlakuan prinsip ini mengacu pada penciptaan daya saing sebagai kunci utama dalam kemampuan untuk berkembang di perdagangan global. Daya saing yang dimaksudkan adalah dalam menawarkan produk dan layanan yang memenuhi kualitas standar pada harga yang kompetitif dan cukup memberikan keuntungan dari sumber daya yang digunakan, dalam hal ini adalah pangan fungsional.

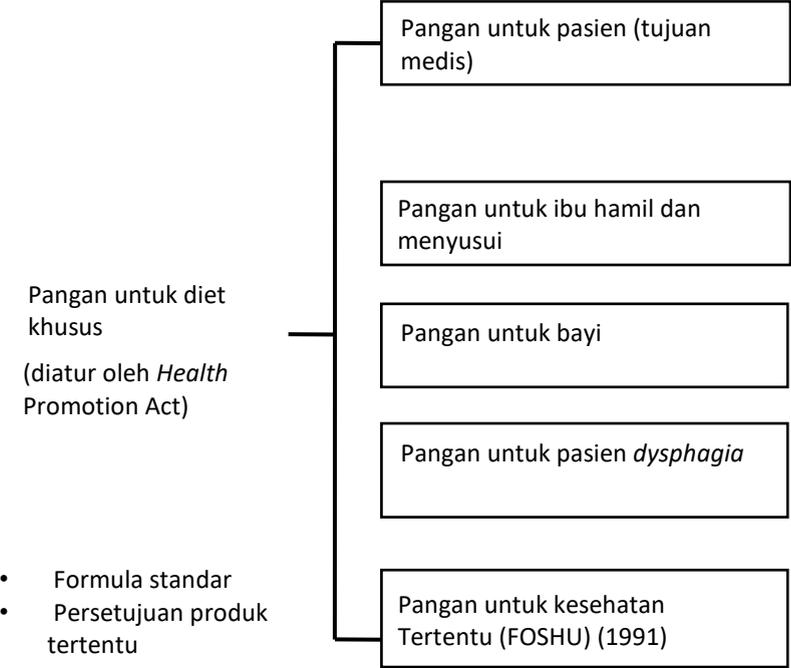
## Regulasi Pangan Fungsional di Berbagai Negara

Istilah pangan fungsional pertama kali diciptakan di Jepang. Pada tahun 1984, Pemerintah Jepang mendefinisikan Pangan untuk Penggunaan Kesehatan Tertentu (*Food for Specific Health Uses, FOSHU*): "Produk makanan yang diperkaya dengan konstituen khusus yang memiliki efek fisiologis yang menguntungkan." Pangan fungsional yang dapat disebut FOSHU harus memenuhi tiga persyaratan gizi:

1. Menunjukkan efektivitas dalam studi klinis sesuai dengan yang diklaimkan
2. Menunjukkan keamanan penggunaan baik dalam studi klinis maupun non-klinis, dan
3. Membuktikan adanya komponen aktif yang efektif.

Selain itu, untuk mendapatkan sebutan FOSHU, produsen harus menuliskan dokumen aplikasi yang berisi bukti-bukti ilmiah yang mendukung klaim yang diusulkan baik secara medis maupun nutritif, dosis atau porsi yang disarankan dari pangan fungsional, aspek keamanan penggunaan pangan, dan deskripsi yang lengkap dari karakteristik fisiko-kimia, metode pembuktian ilmiah, dan komposisi bahan.

Semua pangan memiliki manfaat untuk kesehatan, diantaranya baik untuk kondisi kesehatan dan keadaan tertentu. Gambar 61 menjelaskan beberapa pangan yang dibedakan berdasarkan tujuan penggunaannya.



**Gambar 61. Pangan yang Dibedakan Berdasarkan Tujuan Penggunaannya**

FOSHU memiliki klaim standar yang berpengaruh baik bagi kesehatan organ manusia pada bahan fungsional tertentu. Bahan fungsional ini disarankan untuk dikonsumsi dengan dosis harian pada jumlah tertentu. Tabel 16 menjabarkan klaim standar dan dosis harian

yang disarankan untuk bahan fungsional pada golongan serat makanan dan golongan oligisakarida.

**Tabel 16. Standar FOSHU**

Bahan Fungsional		Dosis Harian yang Disarankan	Klaim standar
Serat Makanan	Dekstrin tidak tercerna	3-8 g	Karena mengandung (nama bahan fungsional), ini membantu mengatur kondisi gastro-intestinal.
	Polidekstroza	7-8 g	
	Guar gum terhidrolisis sebagian	5-12 g	
Oligo-sakarida	Oligosakarida Kedelai	2-6 g	Karena mengandung (nama bahan fungsional) dan meningkatkan bifidobacteria, dengan demikian dapat membantu menjaga lingkungan usus yang baik, ini membantu mengatur kondisi gastro-intestinal.
	Frukto-oligosakarida	3-8 g	
	Lacto-sukrosa	2-8 g	
	Galacto-oligosakarida	2-5 g	
	Xylo – oligosakarida	1-3 g	
	Isomalt-Oligosakarida	10 g	

Pada 1 April 2011, Sebanyak 955 produk pangan yang memiliki klaim kesehatan tertentu (Tabel 17). Presentase paling besar yaitu sebanyak 351 produk pangan memiliki klaim kesehatan untuk membantu menjaga kondisi gastro-intertinal. Klaim lainnya yang dimiliki produk

FOSHU diantaranya baik untuk kolesterol, glukosa darah, tekanan darah tinggi, kesehatan tulang dan gigi serta membantu penyerapan mineral kalsium.

**Tabel 17. Makanan untuk Kesehatan Tertentu (FOSHU) Produk Pangan Disetujui 2011**

Klaim kesehatan	Bahan Fungsional (Contoh)	Produk FOSHU	
			%-ase
"Membantu menjaga kondisi gastro-intestinal yang baik"	Oligisakarida, <i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , Serat pangan	351	37%
"Baik bagi mereka yang memiliki kolesterol serum tinggi atau khawatir dengan serum trigliserida"	Protein kedelai, Peptida, Serat Pangan, tanaman Sterol atau Stanol (Esters), Diasilglicerol, MLCT	214	22%
"Bagus bagi mereka yang memiliki kadar glukosa darah tinggi"	Serat Pangan, Albumin, Polifenol, L-Arabinosa	141	15%
"Bagus bagi mereka yang memiliki tekanan darah tinggi"	Peptida, Glukosida, Asam Amino.	120	13%
"Membantu menjaga kesehatan gigi"	Xilitol, Polioliol, Teh	78	7%
"Membantu meningkatkan penyerapan mineral kalsium"	Polifenols, CPP-ACP, CPP, CCM, Oligosakarida, Besi Heme, MBP, Vitamin K, Isoflavonoid kedelai	51	5%
"Bagus bagi mereka yang memiliki kesehatan tulang"			

Keberadaan FOSHU semakin diterima, di mana penjualannya semakin meningkat di seluruh dunia. Hingga Oktober 2016, lebih dari 1270 pangan fungsional telah disetujui sebagai FOSHU sejak tahun 1991. Di tahun 2015, aturan ini dikembangkan lebih lanjut menjadi dua, yaitu FOSHU sendiri dan pangan dengan klaim fungsional (FFC). FCC didefinisikan sebagai pangan yang ditujukan untuk menyediakan atau memberikan suplementasi nutrisi yang esensial untuk menjalankan fungsi fisiologis dalam pertumbuhan yang normal, perkembangan, ataupun pemeliharaan kesehatan tubuh.

Terdapat perbedaan mengenai klaim kesehatan atau klaim fungsional dan sistem pemberian label yang dilakukan pada jenis produk seperti obat-obatan, Pangan dengan klaim fungsi gizi (FNFC), Pangan untuk penggunaan kesehatan tertentu (FOSHU), Pangan dengan klaim fungsional (FFC) dan makanan umum yang disebut sebagai makanan sehat. Pangan dengan klaim fungsional (FFC) memiliki efek kesehatan yang ditentukan sesuai dengan produk yang dikonsumsi, berbeda dengan makanan umum yang disebut sebagai makanan sehat, pangan tersebut tidak diperbolehkan untuk diberi klaim kesehatan. FFC memiliki sistem pelabelan atau notifikasi produk berada di bawah tanggung jawab operator bisnis makanan itu sendiri. Berbeda dengan FNFC, FOSHU, dan obat-obatan yang sistem pelabelannya harus melalui persetujuan

pemerintah sebelum menjual. Pengenalan terhadap FFC dirangkum dalam tabel 18.

Sejak aturan mengenai FFC diberlakukan di Jepang, dalam kurun waktu kurang dari dua tahun, sudah terdapat kurang lebih 400 klaim yang disetujui oleh pihak regulator. Apabila sebuah produk telah mendapatkan persetujuan klaim, maka produk tersebut pada umumnya akan mengalami peningkatan penjualan. Ini berarti regulasi memberikan dampak positif terhadap komersialisasi produk pangan fungsional.

### Persyaratan untuk FFC

Persyaratan pangan fungsional yang dapat didaftarkan dalam kategori FFC menurut Ikeda (2016) adalah sebagai berikut:

1. Komponen-komponen fungsional disebutkan secara jelas, yaitu komponen-komponen yang tidak dikategorikan sebagai bahan obat, mekanisme aksi, konfirmasi keberadaan komponen secara kualitatif maupun kuantitatif
2. Konsumen target adalah yang kelompok masyarakat yang tidak sedang menderita penyakit, dengan pengecualian usia di bawah 20 tahun, ibu hamil dan menyusui.
3. Bukti ilmiah akan keamanan pangan disajikan. Apabila terdapat klaim lebih dari satu dengan komponen-komponen fungsional penyusun

yang kompleks, maka interaksi antar komponen fungsional harus dideskripsikan dengan jelas

4. Sistem manajemen mutu untuk produksi dan manufaktur tersedia, di mana sertifikat GMP perlu untuk diperoleh dan produk telah memiliki sertifikat hasil analisis dari pihak ketiga.
5. Sistem informasi untuk klaim kesehatan yang tidak sesuai tersedia
6. Bukti ilmiah akan klaim kesehatan disajikan. Bukti atas klaim kesehatan dapat berupa hasil studi klinis yang dipublikasikan di artikel dengan status *peer-reviewed*, dan atau hasil kajian literature yang secara saintifik dapat dipertanggung jawabkan.
7. Pelabelan dilakukan dengan pantas (tidak *over-claim*)

### Contoh Klaim Pangan Fungsional dalam Kelompok FFC

Dalam rentang tertentu, bahan gizi yang terkandung dalam suatu pangan memiliki fungsi klaim yang dapat memberikan manfaat tambahan bagi kesehatan tubuh. Bahan gizi yang di konsumsi harus sesuai dengan jumlah asupan harian yang disarankan, peningkatan asupannya tidak akan berakibat pada penyembuhan penyakit atau meningkatkan kesehatan dan diantaranya tidak diperkenankan untuk dikonsumsi bayi maupun anak-anak dan pada keadaan tertentu. Beberapa contoh bahan gizi yang memiliki klaim kesehatan dalam kelompok FFC diantaranya asam

lemak, seng, kalium, kalsium, vitamin dan beberapa bahan gizi lainnya yang tercantum pada tabel 19 beserta rentang asupan harian yang disarankan serta indikasi peringatannya.

Pangan fungsional kemudian mulai diatur di Eropa. Ketika ilmu pangan fungsional bermigrasi ke Eropa, para peneliti mendefinisikan pangan fungsional menggunakan pernyataan berikut: "Produk makanan hanya dapat dianggap fungsional jika bersama-sama memberikan respons gizi dan memiliki efek menguntungkan pada satu atau lebih fungsi organisme manusia, sehingga meningkatkan kondisi umum dan fisik dan atau mengurangi risiko evolusi penyakit".

Saat ini, pemerintah Eropa mengategorikan pangan sebagai pangan konvensional, pangan yang dimodifikasi, pangan untuk diet khusus dan pangan kesehatan" Tidak seperti Jepang, pemerintah Uni Eropa belum memiliki definisi legislatif formal tentang pangan fungsional. Menurut *European Commission Concerted Action on Functional Food Science in Europe* (FUFOSSE), dalam pengembangan pangan diizinkan untuk membuat dua jenis klaim: klaim gizi dan atau klaim kesehatan. Klaim terhadap gizi mengacu pada kandungan gizi dasar makanan dan kemampuan untuk menyediakan energi. Klaim terhadap kesehatan merujuk kepada kemampuan makanan untuk mencegah, mengelola, atau mengobati. Klaim terhadap kesehatan harus didukung oleh bukti-bukti

ilmiah yang signifikan, mirip dengan proses aplikasi FOSHU di Jepang.

Langkah-langkah pengajuan klaim kesehatan untuk pasar Eropa adalah:

1. Komponen aktif harus diidentifikasi
2. Studi klinis dan meta-analisis harus dilakukan
3. Klaim kesehatan harus teruji baik secara langsung atau melalui biomarker yang efektif
4. Manfaat kesehatan harus terbukti signifikan secara statistik

Di Amerika Serikat, *Food and Drug Administration* (FDA) dan Departemen Pertanian (USDA) tidak memiliki definisi formal untuk pangan fungsional. Akan tetapi, FDA baru-baru ini merilis pedoman untuk menilai klaim kesehatan, berjudul "*Evidence-based review system for the scientific evaluation of health claims*". Seperti di Jepang dan Eropa, Pemerintah AS ingin secara sistematis meninjau klaim kesehatan sehingga makna klaim kesehatan pada pangan fungsional akan terlihat lebih jelas.

Selain pemerintah, organisasi nasional dan internasional mengembangkan definisi sendiri untuk makanan fungsional.

1. *National Academy of Sciences Food and Nutrition Board* di AS menyatakan bahwa pangan fungsional adalah: "Setiap makanan yang dimodifikasi atau bahan makanan yang dapat memberikan manfaat kesehatan diluar kandungan nutrisi".

2. *Institute of Food Technologists* (IFT) mendefinisikan pangan fungsional sebagai: "Zat yang memberikan nutrisi penting sering diluar jumlah yang diperlukan untuk pemeliharaan, pertumbuhan, perkembangan, dan atau komponen biologis aktif lainnya yang dapat memberikan manfaat kesehatan atau efek fisiologis yang diinginkan".
3. *American Dietetic Association* (ADA), menyatakan bahwa pangan fungsional adalah: "Bahan atau substansi baik secara keseluruhan, diperkaya, atau ditingkatkan yang dikonsumsi secara teratur dan pada jumlah yang efektif dalam rangka untuk memperoleh manfaat kesehatan".

## Regulasi Pangan Fungsional di Indonesia

Permohonan persetujuan dari fungsi nutrisi baru atau pengurangan klaim risiko penyakit harus dikirimkan untuk dapat disetujui oleh Pemerintah Republik Indonesia melalui Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). BPOM akan mengeluarkan keputusan tentang apakah akan menerima atau menolak klaim kesehatan akan dilakukan dalam waktu sekitar 6 bulan. Persyaratan klaim baru harus memiliki unsur-unsur berikut:

1. Sejalan dengan kebijakan kesehatan dan gizi nasional;

2. Komponen fungsional tidak terkait dengan pengobatan dan pencegahan penyakit pada individu;
3. Pangan yang diajukan tidak mendorong pola makan yang tidak sehat;
4. Informasi disajikan berbasis diet harian (% angka kecukupan gizi, atau % asupan direkomendasikan); dan
5. Informasi disampaikan secara benar dan tidak menyesatkan.

BPOM akan memutuskan apakah suatu penelitian diperlukan untuk memproses pengajuan untuk komponen baru dan atau klaim kesehatan yang baru. Penelitian harus dilakukan pada produk makanan dalam bentuk yang siap untuk dikonsumsi dan jika komponen dalam makanan yang baru maka persyaratan berikut ini harus ditunjukkan:

1. Riwayat penggunaan bahan baku sebagai makanan;
2. Sifat fisik dan kimia dari makanan;
3. Potensi timbulnya alergi yang disebabkan oleh bahan baku pangan tersebut;
4. Metabolisme pangan setelah bahan pangan tersebut dikonsumsi;
5. Hasil penelitian toksisitas sub-kronis pada hewan;
6. Hasil studi tentang toleransi manusia terhadap bahan pangan dimaksud;

7. Jika komponen dalam bentuk ekstrak tumbuhan atau hewan maka harus disertai dengan informasi tentang metode ekstraksi dan komposisi ekstrak; dan bukti ilmiah untuk mendukung klaim fungsi nutrisi baru. Pengurangan klaim risiko penyakit harus didasarkan pada penelitian manusia yang memenuhi prinsip-prinsip ilmiah yang berlaku (studi eksperimental percobaan terkontrol acak atau pengamatan jika penelitian eksperimental tidak tersedia atau tidak mungkin dilakukan). Metode pembuktian *in vitro* dan penelitian hewan dapat diajukan untuk mendukung aplikasi.

Faktor-faktor yang harus dipertimbangkan dalam penelitian eksperimental pada manusia:

1. Tujuan penelitian harus sesuai dengan klaim yang diajukan.
2. Kelompok studi termasuk kelompok kontrol yang dipelajari harus relevan dengan klaim yang diajukan dan sesuai dengan target populasi. Dalam kondisi tertentu kebutuhan penelitian dilakukan di Indonesia.
3. Kekuatan statistik untuk menguji hipotesis dan signifikansi klinis harus dipertimbangkan.

4. Jumlah subjek yang diteliti, durasi intervensi dan jumlah hasil (jika ada) harus cukup untuk menunjukkan efek kesehatan yang diharapkan.
5. Kepatuhan terhadap konsumsi makanan yang mengandung komponen fungsional harus dipantau.
6. Asupan nutrisi dan komponen diuji perlu dipantau dengan metode divalidasi tepat sebagai bagian dari penelitian eksperimental.
7. Pola Konsumsi Makanan yang digunakan dalam penelitian ini tidak melebihi pola yang biasa konsumsi. Untuk inovasi produk, makanan disesuaikan dengan tingkat penerimaan (berdasarkan hasil tes penerimaan).
8. Perlu untuk mempertimbangkan sifat dari makanan, bagaimana makanan disiapkan dan dikonsumsi dalam kaitannya dengan kepentingan kesehatan.
9. Penelitian termasuk dalam aplikasi harus menerima persetujuan etis oleh komite etika yang diakui.
10. Hasil penelitian harus mewakili totalitas bukti. Ketika aplikasi sedang dievaluasi oleh tim reviewer, baik temuan positif dan negatif akan dilaporkan
11. Hasil penelitian harus telah diterbitkan dalam jurnal ilmiah.
12. Penelitian harus dilakukan oleh peneliti atau lembaga independen.

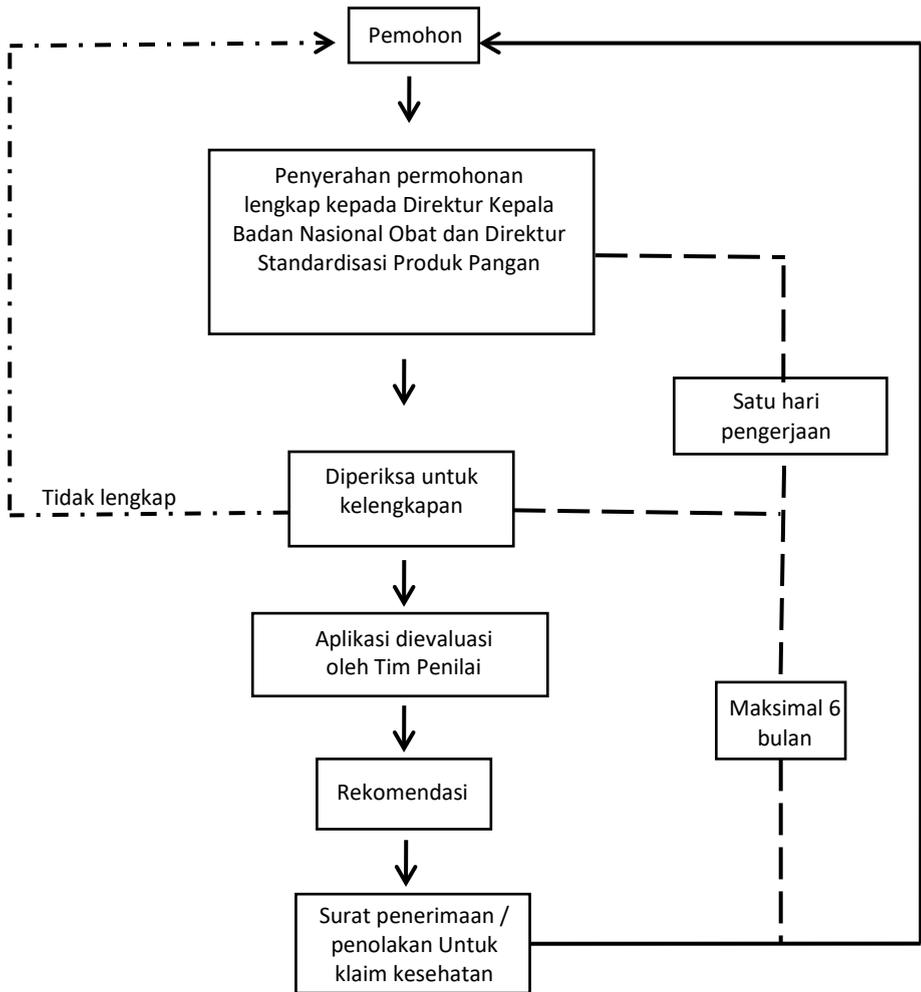
13. Hasil penelitian harus menunjukkan bahwa penggunaan produk pangan menunjukkan efek yang signifikan secara statistik dan klaim klinis yang tepat dengan menggunakan jumlah asupan yang disarankan.

### Alur Pengajuan Klaim

Dalam melakukan pengajuan klaim, ada beberapa tahap yang harus dilakukan, pertama menyerahkan berkas-berkas permohonan lengkap kepada Direktur Kepala Badan Nasional Obat dan Direktur Produk Pangan Standardisasi, kemudian akan diperiksa kelengkapannya selama satu hari pengerjaan. Berkas permohonan yang tidak lengkap akan dikembalikan kepada pemohon, sedangkan berkas permohonan lengkap akan dievaluasi oleh tim penilai untuk mendapatkan rekomendasi dalam pembuatan surat penerimaan ataupun penolakan terhadap klaim yang diajukan, proses tersebut memakan waktu maksimal 6 bulan (Gambar 62.)

### Penggunaan *Endpoint* dan biomarker

1. Manfaat yang diklaim harus diukur secara langsung sebagai *endpoint*. Biomarker dapat digunakan ketika manfaat fungsional tidak dapat diukur secara langsung.



**Gambar 62. Proses pengajuan klaim kesehatan**

2. Biomarkers dipilih untuk menjadi indikator hasil biologis, fisiologis, klinis atau epidemiologi dan harus diakui secara internasional, dan dapat dipengaruhi oleh konsumsi makanan, komponen makanan atau bahan makanan diselidiki. Laporan Teknis WHO 916 dapat digunakan sebagai pedoman.

3. Variasi respon individu atau antara kelompok penduduk harus dipertimbangkan ketika mengevaluasi penelitian menggunakan biomarker.
4. Metode yang digunakan untuk mengukur biomarker harus menjadi salah satu yang biasanya digunakan oleh masyarakat ilmiah internasional.

### Klaim Kesehatan pada Makanan Impor

Mengingat perbedaan detail persyaratan untuk mendapatkan klaim kesehatan yang baru disetujui di Indonesia, klaim kesehatan dari negara lain tidak serta merta akan diakui di Indonesia. Permohonan persetujuan klaim kesehatan yang baru harus dibuat berdasarkan hasil review dari Badan Pengawas Obat dan Makanan.

**Tabel 18. Pengenalan Pangan dengan Klaim Fungsional (FFC) dan Karakteristik Makanan Kesehatan**

	Obat	Makanan			
	Obat resep, obat bebas (termasuk kuasi-obat)	Pangan dengan Klaim Kesehatan (FHC)			Makanan umum
		Pangan dengan Klaim Fungsi Gizi (FNFC)	Pangan untuk Penggunaan Kesehatan Tertentu (FOSHU)	Pangan dengan Klaim Fungsional (FFC)	Disebut makanan sehat
Klaim Khasiat atau Fungsi	1. Diagnosis, pengobatan, penyembuhan, pencegahan penyakit. 2. Struktur atau klaim fungsional pada tubuh	Fungsi Gizi Klaim untuk vitamin, mineral, dll.  Struktur atau klaim fungsional	1. Efek kesehatan yang ditentukan (Struktur atau klaim fungsional)  2. Pengurangan risiko penyakit	Efek kesehatan yang ditentukan  Struktur atau klaim fungsional	Tidak diperbolehkan

	Obat	Makanan			
	Obat resep, obat bebas (termasuk kuasi-obat)	Pangan dengan Klaim Kesehatan (FHC)			Makanan umum
		Pangan dengan Klaim Fungsi Gizi (FNFC)	Pangan untuk Penggunaan Kesehatan Tertentu (FOSHU)	Pangan dengan Klaim Fungsional (FFC)	Disebut makanan sehat
Sistem pemberian label	Sistem persetujuan oleh pemerintah sebelum menjual	Klaim tetap untuk masing-masing unsur hara yang diputuskan oleh pemerintah (Baik registrasi maupun notifikasi tidak diperlukan)	Sistem persetujuan oleh pemerintah sebelum menjual	Sistem notifikasi di bawah tanggung jawab operator bisnis makanan itu sendiri	-

**Tabel 19. Klaim fungsional bahan gizi dalam kelompok FFC**

Bahan Gizi	Rentang bahan gizi (RDI)	Klaim Fungsional	Indikasi Peringatan
asam lemak $\Omega$ -3	0,6 g – 2,0 g	Membantu menjaga kulit	Peningkatan asupan produk ini tidak akan berakibat pada penyembuhan penyakit atau meningkatkan kesehatan. Mohon memenuhi asupan harian yang dianjurkan
Seng	2,64 mg - 15 mg	Nutrisi yang dibutuhkan untuk menjaga rasa tetap normal dan membantu menjaga kesehatan kulit dan selaput lendir. Ini terlibat dalam metabolisme protein dan asam nukleat dan sangat membantu dalam	Peningkatan asupan produk ini tidak akan berakibat pada penyembuhan penyakit maupun meningkatkan kesehatan. Untuk banyak asupan seng bisa menghambat penyerapan tembaga. Mohon memenuhi asupan harian yang dianjurkan. Bayi dan anak kecil sebaiknya menghindari penggunaan produk ini.

Bahan Gizi	Rentang bahan gizi (RDI)	Klaim Fungsional	Indikasi Peringatan
		menjaga kesehatan.	
Kalium	840 mg – 2.800 mg	Membantu menjaga tekanan darah	Peningkatan asupan produk ini tidak akan menyebabkan penyembuhan penyakit atau meningkatkan kesehatan. Mohon memenuhi asupan harian yang dianjurkan. Yang memiliki kelainan fungsi hati harus menghindari penggunaan produk ini.
kalsium	204 mg - 600 mg	Diperlukan dalam pengembangan tulang dan gigi	Peningkatan asupan produk ini tidak akan berakibat pada penyembuhan penyakit maupun meningkatkan kesehatan. Mohon memenuhi asupan harian yang dianjurkan.
Besi	2,04 mg - 10 mg	Diperlukan dalam pembentukan sel darah merah	
Tembaga	0,27 mg – 6,0 mg	Membantu membentuk sel darah merah dan membantu fungsi enzim tubuh dan	Peningkatan asupan produk ini tidak akan berakibat pada penyembuhan penyakit maupun meningkatkan kesehatan. Mohon memenuhi asupan harian yang dianjurkan. Bayi dan anak kecil sebaiknya menghindari penggunaan produk ini.

Bahan Gizi	Rentang bahan gizi (RDI)	Klaim Fungsional	Indikasi Peringatan
Magnesium	96 mg - 300 mg	pembentukan tulang yang tepat. Diperlukan untuk pengembangan tulang dan gigi, menjaga sirkulasi darah, dan membantu fungsi tubuh yang tepat dari enzim tubuh dan pembangkit energi.	Peningkatan asupan produk ini tidak akan berakibat pada penyembuhan penyakit maupun meningkatkan kesehatan. Peningkatan asupan dapat menyebabkan diare. Mohon memenuhi asupan harian yang dianjurkan. Bayi dan anak kecil sebaiknya menghindari penggunaan produk ini.
Niasin	3,9 mg - 60 mg	Membantu menjaga kesehatan kulit dan mukosa.	Peningkatan asupan produk ini tidak akan berakibat pada penyembuhan penyakit maupun promosi kesehatan. Mohon memenuhi asupan harian yang dianjurkan
Asam Pantotenat	1,44 mg - 30 mg		

---

Bahan Gizi	Rentang bahan gizi (RDI)	Klaim Fungsional	Indikasi Peringatan
Biotin	15 µg - 500 µg		
Vitamin A	231 µg - 600 µg	Membantu menjaga penglihatan dalam kegelapan, dan membantu menjaga kesehatan kulit dan mukosa.	Peningkatan asupan produk ini tidak akan berakibat pada penyembuhan penyakit maupun meningkatkan kesehatan. Mohon memenuhi asupan harian yang dianjurkan. Wanita dalam bulan ketiga kehamilan atau wanita yang mempertimbangkan untuk hamil harus berhati-hati terhadap konsumsi berlebihan.
Vitamin B1	0,36 mg - 25 mg	Membantu menghasilkan energi dari karbohidrat dan menjaga kesehatan kulit dan mukosa.	Peningkatan asupan produk ini tidak akan menyebabkan penyembuhan penyakit atau meningkatkan kesehatan. Mohon memenuhi asupan harian yang dianjurkan.
Vitamin B2	0,42 mg - 12 mg	Membantu menjaga kesehatan kulit dan mukosa.	

---

---

Bahan Gizi	Rentang bahan gizi (RDI)	Klaim Fungsional	Indikasi Peringatan
Vitamin B6	0,39 mg - 10 mg	Membantu menghasilkan energi dari protein dan menjaga kesehatan kulit dan mukosa.	
Vitamin B12	0,72 µg - 60 µg	Membantu pembentukan sel darah merah.	
Vitamin C	30 mg – 1.000 mg	Membantu menjaga kesehatan kulit dan mukosa dan memiliki efek anti-pengoksidasi	

---

---

Bahan Gizi	Rentang bahan gizi (RDI)	Klaim Fungsional	Indikasi Peringatan
Vitamin D	1,65 µg – 5,0 µg	Meningkatkan penyerapan kalsium di usus dan membantu pertumbuhan tulang.	
Vitamin E	1,98 mg - 150 mg	Membantu melindungi lemak dari tubuh agar tidak teroksidasi dan menjaga kesehatan sel.	
Vitamin K	45 µg - 150 µg	Membantu mempertahankan koagulabilitas darah yang tepat.	Peningkatan asupan produk ini tidak akan menyebabkan penyembuhan penyakit atau meningkatkan kesehatan. Mohon memenuhi asupan harian yang dianjurkan. Seseorang yang minum antikoagulan sebaiknya menghindari penggunaan produk ini.

---

---

Bahan Gizi	Rentang bahan gizi (RDI)	Klaim Fungsional	Indikasi Peringatan
Asam Folat	72 µg - 200 µg	Membantu pembentukan sel darah merah dan berkontribusi pada pertumbuhan normal janin.	Peningkatan asupan produk ini tidak akan berakibat pada penyembuhan penyakit maupun meningkatkan kesehatan. Mohon memenuhi asupan harian yang dianjurkan. Produk ini membantu perkembangan janin normal, namun peningkatan asupan produk ini tidak akan menghasilkan perkembangan janin yang lebih baik.

---

Sumber: Hayashi dan Mangino (2015).

# Teknik Analisis Senyawa dalam Pangan Fungsional Berkhasiat Antioksidan

Bohari, Nur Aini Hayati, Muhammad Muhadir dan Anton Rahmadi

## Kadar ALB CPO

Kadar Asam Lemak Bebas (ALB) diukur dengan menggunakan metode Sudarmadji *et al* (2010). Sebanyak 20 g sampel ditimbang dan dilarutkan dalam 50 mL etanol panas. Selanjutnya, sampel disaring dan diambil filtratnya. Ke dalam filtrat, ditambahkan 2 tetes indikator Phenolphthalein (PP) dan dititrasi dengan NaOH 0,1 N yang telah distandardisasi sampai warna merah jambu tidak hilang selama 30 detik. Persen asam lemak bebas dinyatakan sebagai molekul lemak yang dicari.

$$FFA (\%) = \frac{ml NaOH \times N NaOH \times BM_L}{W_i \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan :

N = Normalitas NaOH;

BM<sub>L</sub> = Berat molekul asam lemak (g/mol); Asam Palmitat = 256 g/mol;

W<sub>i</sub> = Berat sampel

## Derajat Keasaman (pH)

Uji pH diukur dengan menggunakan metode Sudarmadji *et al* (2010). Diambil contoh produk emulsi sebanyak ± 50 mL ke dalam sebuah gelas piala dan kemudian diukur pH-nya sebanyak dua kali (duplo) untuk

setiap produk. Sebelum digunakan, pH meter harus dikalibrasikan dengan cara mengukur pada dua pH buffer yang telah diketahui nilainya.

### Pengukuran Total Karotenoid Metode Spektrofotometri

Total Karotenoid diukur dengan menggunakan metode PORIM (1995). Produk emulsi ditimbang sebanyak 0,1 gram dan dimasukkan ke dalam labu takar 25 mL, kemudian sampel dilarutkan dengan hexan sampai tanda tera, dengan cara dikocok hingga benar-benar homogen. Sampel kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 446 nm dengan menggunakan spektrofotometer. Selanjutnya, nilai karotenoid total dihitung menggunakan persamaan berikut :

$$T = \frac{25 \times A \times 383}{100 \times W}$$

Keterangan :

T = Karotenoid total;

A = Absorbansi pada panjang gelombang 446 nm;

W = Bobot sampel (gram)

### Pengukuran Tokoferol Metode Spektrofotometri UV

Kadar tokoferol dalam produk diukur dengan metode Larasati (2007). Sampel sebanyak 100 mg dilarutkan dalam etanol proanalisis 10 ml. Larutan tersebut diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometri UV pada panjang gelombang 286 nm. Sebagai blanko

adalah sampel tanpa mengandung zat aktif  $\alpha$ -tokoferol yang diperlakukan sama dengan sampel. Penentuan kuantitatif perolehan kembali kadar  $\alpha$ -tokoferol dalam sampel diperoleh dari kurva kalibrasi. Kurva kalibrasi standar  $\alpha$ -tokoferol dibuat dalam etanol dengan rentang konsentrasi 50-200  $\mu\text{g/ml}$  dalam 10 ml etanol absolut.

### Pengukuran Tokoferol Metode Spektrofotometri Fluoresensi

Kadar tokoferol dalam produk diukur dengan metode Wang *et al* (1991) secara fluorometri. Sebanyak 100  $\mu\text{l}$  produk ditambah 500  $\mu\text{l}$  aquabidest dan 500  $\mu\text{l}$  etanol 95%, dicampur dengan menggunakan vortex. Setelah itu ditambah 2,5 ml heksana, kocok kuat-kuat, lalu sentrifuge pada 3000x g selama  $\pm 7$  menit. Supernatan dibaca dengan spektrofotometer fluoresensi pada eksitasi 295 nm dan emisi 320 nm. Kurva standar tokoferol disiapkan pada konsentrasi 0, 10, 20, 30, 40, dan 50  $\mu\text{g/ml}$  dalam 2,5 ml n-heksana.

### Viskositas

Uji kekentalan secara obyektif dilakukan dengan menggunakan alat pengukur kekentalan yaitu viskometer Ostwald. Cara pengukuran kekentalan yaitu produk emulsi dimasukkan ke dalam viskometer sampai penuh kemudian produk emulsi tersebut akan mengalir, pada viskometer

terdapat 2 tanda batas yaitu tanda batas atas dan tanda batas bawah. Ketika produk emulsi sampai pada tanda batas atas *stopwatch* “on”, ketika produk emulsi sampai tanda batas bawah *stopwatch* dihentikan. Waktu yang diperlukan produk emulsi tersebut mengalir dari tanda batas atas sampai tanda batas bawah dicatat.

$$n_2 \text{ (Viskositas produk emulsi)} = n_1 \times \frac{d_2 \times t_2}{d_1 \times t_1}$$

Keterangan :

$n_1$  = Viskositas cairan pembanding (Aquadest)

$n_2$  = Viskositas produk emulsi

$d_1$  = Densitas cairan pembanding (Aquadest)

$d_2$  = Densitas produk emulsi

$t_1$  = Waktu aliran cairan pembanding (Aquadest)

$t_2$  = Waktu aliran produk emulsi

## Vitamin C

Analisa kadar vitamin C dilakukan dengan metode titrasi iodin (Sudarmadji *et al*, 2010). Sebanyak 10 g bahan dimasukan dalam labu takar 100 mL dan ditambah aquades sampai tanda tera. Filtrat dipisahkan dengan cara disaring atau disentrifugasi. Sebanyak 5-25 mL filtrat diambil dengan pipet dan dimasukan ke dalam Erlenmeyer 125 mL dan ditambah 2 mL larutan amilum 1% (*soluble starch*). Kemudian sampel dititrasi dengan standar yodium 0,01 N. Titik akhir titrasi ditandai dengan adanya warna biru dari iod-amilum. Perhitungan kadar vitamin C dengan

standarisasi larutan iodin yaitu 1 mL 0,01 N iodin = 0,88 mg asam askorbat.

$$\text{Vit C} \left( \frac{\text{mg}}{100 \text{ g sampel}} \right) = \frac{\text{mL iodin } 0,01 \text{ N} \times 0,88 \text{ mg} \times \text{FP} \times 100}{\text{berat sampel (g)}}$$

### Aktivitas Antioksidan DPPH

Total antioksidan dilakukan dengan metode spektrofotometri dengan 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Farhan *et al*, 2012). Sebanyak 1 mL ekstrak yang telah diencerkan dalam etanol ditambahkan ke 1 mL DPPH (0,15 mM dalam etanol) dan pada saat yang sama, kontrol yang terdiri atas DPPH 1 mL dengan 1 mL etanol disiapkan. Campuran reaksi dicampur dengan baik lalu diinkubasi dalam keadaan gelap pada suhu ruang selama 30 menit. Absorbansi diukur pada 519±2 nm. Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif dan etanol digunakan sebagai blanko. Kemampuan DPPH ekstrak dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Total antioksidan (\%)} = \frac{(\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel})}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Absorbansi kontrol adalah absorbansi DPPH + etanol

Absorbansi sampel adalah absorbansi DPPH radikal + sampel.

Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah dengan nilai  $IC_{50}$ . (*Inhibitory Concentration*).  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Nilai  $IC_{50}$  diperoleh dari persamaan linier persen penghambatan radikal DPPH terhadap beberapa konsentrasi ekstrak sampel. Persamaan regresi linier yaitu  $y = ax + b$ .

### Aktivitas Antioksidan ABTS

Mula-mula dibuat larutan a yaitu dengan menimbang 7,1015 mg ABTS, kemudian sampel dilarutkan dalam 5 ml aquadest. Lalu, larutan a diinkubasi selama 12 jam. Selanjutnya larutan b dibuat dengan menimbang 3,500 mg  $K_2S_2O_8$  dan dilarutkan dalam 5 ml aquadest. Larutan diinkubasi selama 12 jam. Setelah diinkubasi Larutan a dan b dicampur dalam ruang gelap dan ditambahkan dengan etanol absolut hingga 25 ml.

Sebanyak 1 mL larutan stok ABTS dan ditambahkan dengan etanol absolut hingga menjadi 5 mL labu ukur. Selanjutnya, campuran ini diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada rentang panjang gelombang 745-755 nm.

Larutan sampel 1000 ppm diambil sebanyak 500  $\mu$ L, lalu ditambahkan dengan 1 mL larutan ABTS kemudian ditambahkan etanol

absolut hingga volumenya sampai 5 mL sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm. Selanjutnya, sampel dihomogenkan kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Untuk pembanding, digunakan vitamin C dan BHT. Larutan stok vitamin C dan BHT 1000 ppm masing-masing dipipet sebanyak 25  $\mu$ L. Selanjutnya, ditentukan aktivitas antioksidan berdasarkan rumus berikut:

$$\text{Aktivitas Antioksidan (\%)} = \frac{(\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel})}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

### Aktivitas Antioksidan FRAP

Mula-mula dilakukan pembuatan reagen FRAP, disiapkan terlebih dahulu larutan buffer asetat 0,1 M (pH 3, 6), larutan *2,4,6-tripyridyl-s-triazine* (TPTZ) 10 mM dalam HCl 40 mM dan larutan  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  20 mM kemudian larutan tersebut dicampur dengan perbandingan 10:1:1 dalam labu ukur 100 mL.

Larutan stok 10.000  $\mu\text{mol/L}$   $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dibuat dengan melarutkan 2,78  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dalam 1000 mL aquades. Selanjutnya dari larutan stock 10.000  $\mu\text{mol/L}$   $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  diambil sebanyak 100 mL dan diencerkan hingga 1000 mL hingga diperoleh konsentrasi 1000  $\mu\text{mol/L}$   $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Larutan 1000  $\mu\text{mol/L}$   $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  diambil masing – masing sebanyak 1, 2, 3, 4 dan 5 mL dan ditempatkan pada labu takar yang

berbeda dan diencerkan dengan aquades hingga 100 mL. Konsentrasi larutan standar  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  yang terbentuk berturut – turut 10, 20, 30, 40 dan 50  $\mu\text{mol/L}$ . Panjang gelombang maksimum diperoleh melalui pengukuran absorbansi dari standar  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dengan konsentrasi yang paling tinggi (1000  $\mu\text{mol/L}$ ). Dari larutan tersebut diambil sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan reagen FRAP sebanyak 3 mL, lalu dibaca pada setiap panjang gelombang dalam kisaran 588-598 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Larutan sampel sebanyak 0,1 mL ditambah reagen FRAP sebanyak 3 ml dalam tabung reaksi. Selanjutnya larutan dibaca absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Penentuan total antioksidan secara kuantitatif dalam sampel diperoleh berdasarkan kurva kalibrasi  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .

### Total Fenolik

Analisis fenol ini dilakukan secara spektrofotometri dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu (Mu'Nisa *et al*, 2012; Nurhayati *et al*, 2012) dan sebagai pembanding digunakan asam galat. Kandungan total fenolat dalam ekstrak dinyatakan dalam *gallic acid equivalent* (GAE).

Sampel ditimbang sebanyak 5 mg dilarutkan dalam tabung dalam 2 mL etanol 95%. Selanjutnya, pada sampel ditambahkan 5 mL aquades dan

0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu 50% (v/v). Sampel didiamkan selama 5 menit dan ditambahkan larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  5% (b/v) sampai volume total mencapai 10 mL. Kemudian, larutan tersebut dihomogenkan dalam ruang gelap selama 1 jam. Setelah homogen, larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang 752 nm.

### Total Tanin

Total tannin diuji dengan metode Malangngi *et al* (2012). Sebanyak 0,5 g produk diekstraksi dengan 10 mL dietil eter selama 20 jam, kemudian disaring dan residu yang diperoleh dididihkan dengan 100 mL aquades selama 2 jam, kemudian didinginkan dan disaring. Ekstrak yang diperoleh ditambahkan dengan aquades hingga volume ekstrak mencapai 100 mL. Sebanyak 0,1 mL ekstrak ditambahkan dengan 0,1 mL reagen Folin-Ciocalteu dan divorteks, ditambahkan dengan 2 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dan divorteks lagi. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 760 nm setelah diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Hasil yang diperoleh diplotkan terhadap kurva standar asam tanat yang dipersiapkan dengan cara yang sama. Kandungan total tanin dinyatakan dalam mg asam tanat/kg ekstrak.

## Total Flavonoid

Total flavonoid diukur dengan metode Zou *et al* (2004). Ditimbang 1 mg ekstrak kemudian larutkan sampai 10 mL dengan etanol 95%. Ekstrak yang telah dilarutkan dalam etanol ditambahkan aquades sebanyak 0,7 mL. Kemudian ditambahkan 0,1 mL NaNO<sub>2</sub> 5% ke dalam campuran tersebut. Setelah 5 menit, ditambahkan 0,1 mL AlCl<sub>3</sub> 10%. Setelah 6 menit, ditambahkan 0,5 mL NaOH 1 M. Semua bahan dicampurkan merata lalu diinkubasi selama 10 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 510 nm dengan blanko berupa 1 mL sampel diganti dengan 1 mL pelarut etanol 95%. Hasil yang diperoleh diplotkan terhadap kurva standar katekin yang dipersiapkan dengan cara yang sama. Total flavonoid dinyatakan sebagai mg ekuivalen katekin per g berat kering.

## Uji Penerimaan dan Preferensi Panelis

Uji penerimaan dan preferensi menggunakan metode Montenegro *et al* (2015). Uji penerimaan dan preferensi digunakan untuk mengetahui penerimaan panelis terhadap semua formulasi. Pada uji penerimaan, sebanyak 60 panelis tidak terlatih dengan rentang usia 17 s.d. 21 tahun diminta penilaiannya terhadap parameter penerimaan rasa, aroma, *mouth feel*, dan warna. Angka yang diperoleh kemudian

ditransformasikan dalam skala yaitu: satu (1) untuk sangat tidak disukai, dua (2) untuk tidak disukai, tiga (3) untuk netral, empat (4) untuk disukai, dan lima (5) untuk sangat disukai. Uji preferensi dilakukan dengan 60 orang panelis, dilakukan terhadap parameter kekuatan rasa dan aroma dari masing-masing komponen penyusun aroma. Angka yang diperoleh kemudian ditransformasikan dalam skala yaitu: satu (1) untuk sangat tidak terasa, dua (2) untuk tidak terasa, tiga (3) untuk agak terasa, empat (4) untuk terasa, dan lima (5) untuk sangat terasa. Data yang diperoleh dianalisis dengan perangkat lunak statistik. Jika terdapat pengaruh yang berbeda nyata pada taraf  $\alpha$  5% pada sidik ragam, maka dilakukan uji lanjut dengan *multiple comparisons test*.

### Uji Aktivitas Antimikroba

Sebanyak 200 g sampel bubuk atau produk pada kombinasi suhu dan waktu pengeringan terpilih diekstraksi dengan metode maserasi dalam 500 mL pelarut yang berbeda yaitu etanol 95 %, n-heksana, dan akuades selama 48 jam pada suhu ruang ( $30 \pm 2$  °C) sambil dilakukan beberapa kali pengadukan. Filtrat dipekatkan dengan oven pada suhu 60°C hingga didapatkan ekstrak pekat ( $\pm 6$  jam).

Uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan metode sumur difusi seperti yang dikerjakan oleh Rahmadi *et al* (2013). Bakteri Gram (+) dan

bakteri Gram (-) yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Kultur Koleksi Jurusan THP, Universitas Mulawarman, Indonesia). Sebanyak 1 ml suspensi ( $1 \times 10^4$  CFU/ml) *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diinokulasikan ke dalam masing-masing cawan petri yang di dalamnya terdapat 5 buah pencadang steril. Kemudian, medium *nutrient agar* (NA) bersuhu hangat ( $\pm 50$  °C) dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak  $\pm 25$  mL. Kemudian agar dihomogenkan dan dibiarkan sampai mengeras. Setelah media mengeras, pencadang tersebut dicabut dengan menggunakan pinset steril, sehingga terbentuk lubang sumur pada media. Setiap cawan petri yang memiliki lima lubang sumur yang masing-masing ditambahkan 50  $\mu$ L akuades steril (kontrol negatif), antibakteri tetrasiklin (kontrol positif) 0,5 mg/50  $\mu$ L, dan ekstrak dari setiap jenis pelarut dengan konsentrasi yang berbeda-beda yaitu: 0,5 mg, 1 mg, 1,5 mg. Cawan petri diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter areal bening yang terbentuk di sekeliling sumur sebanyak dua kali untuk diambil rata-ratanya. Pengamatan dilakukan secara duplo dengan dua kali ulangan.

### Uji Bioavailabilitas Tokoferol

Sampel darah diambil dari seluruh subyek penelitian, yaitu tikus putih galur Wistar sebelum diberi perlakuan dari medial canthus sinus

orbitalis  $\pm$  2 ml. Darah disentrifusi untuk mendapatkan plasma dan dilakukan pengukuran kadar tokoferol pada plasma dengan metode Wang *et al* (1991) secara fluorometri. Kemudian masing-masing kelompok perlakuan diberikan sediaan uji dengan dosis 0,15 ml/kgBB per hari; 0,3 ml/kgBB per hari; dan 0,6 ml/kgBB per hari, selama 10 hari. Pada hari ke-10, tikus dibuat stres oksidatif dengan diberi beban aktivitas fisik maksimal yaitu dibuat berenang sampai terjadi tanda-tanda kelelahan berupa hampir tenggelam. Setelah itu, sampel darah segera diambil, kemudian dilakukan kembali pengukuran kadar tokoferol pada plasma sesuai metode fluorometri.

### Uji Bioavailabilitas Retinol

Bioavailabilitas diukur dengan menggunakan metode Spektrofotometri (Supariasa *et al*, 2012). Pengujian diawali dengan melakukan pengambilan darah sebanyak 3 mL kepada subjek penelitian (orang atau hewan) di hari pertama sebagai data kontrol. Selanjutnya, di hari kedua dan seterusnya hingga hari ke-22, peneliti memberikan asupan harian produk sebanyak 3 sendok makan (15 mL) untuk dikonsumsi pada pagi hari. Setiap 7 hari sekali dilakukan pengambilan darah sebanyak 3 mL untuk mengukur konsentrasi serum retinol subjek penelitian sebagai

parameter untuk pengukuran status vitamin A setelah mengkonsumsi produk.

Penentuan serum retinol dapat dilakukan dengan cara kolorimetri menggunakan pereaksi asam trifluoroasetat (TFA).

### Prinsip

Setelah protein didenaturasi dengan alkohol, vitamin A diestraksi dengan pelarut organik. Ekstrak dipisahkan dan vitamin A ditentukan dengan direaksikan dengan tri-flouoro-acetic acid (TFA), dan warna biru yang terbentuk diukur serapannya pada panjang 620 nm. Karena karoten juga memberikan reaksi dengan TFA, meskipun jauh lebih lemah, perlu ada faktor koreksi karena ada pengaruh dari karoten ini.

### Prosedur Kerja (Semi Mikro)

500  $\mu$ L serum dalam tabung reaksi ditambah dengan 500  $\mu$ L etanol (atau dapat pula 1N KOH dalam 90% etanol).

1. Dikocok dengan tangan sampai rata. Ditambahkan 1000  $\mu$ L petroleum eter (40-60°C) lalu dikocok dengan voltrex selama 1 menit.
2. Sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 5-10 menit akan memisahkan ekstrak vitamin A dibagian atas serta campuran serum alkohol di bagian bawah.

3. Ekstrak dipipet sebanyak 750  $\mu\text{L}$  lalu diukur serapannya pada panjang gelombang 450 nm untuk penentuan karoten.
4. Ekstrak tersebut kemudian diuapkan sampai kering dengan gas nitrogen. Ditambahkan dengan 1500  $\mu\text{L}$  pereaksi TFA (campuran 1 bagian TFA dan 2 bagian kloroform yang disiapkan segar).
5. Warna biru yang terbentuk harus sudah diukur serapannya dalam waktu 30 detik pada panjang gelombang 620 nm.

### Standar untuk Faktor Koreksi

Standar vitamin A atau karoten yang dilarutkan dalam khloroform berisi 2 mg/mL, 4 mg/mL, dan 8 mg/mL disiapkan. Dipipet 25 mL dari masing-masing konsentrasi tersebut dan diukur serapannya setelah ditambah 1500  $\mu\text{L}$  pereaksi. Standar tersebut setara dengan konsentrasi vitamin A dalam serum 10  $\mu\text{g/dL}$ , 20  $\mu\text{g/dL}$ , 30  $\mu\text{g/dL}$ , dan 40  $\mu\text{g/dL}$ .

Faktor koreksi karena pengaruh reaksi antara pereaksi dengan karoten dibuat sebagai berikut :

1. Disiapkan standar karoten yang berisi 10  $\mu\text{g/dL}$ , 20  $\mu\text{g/dL}$ , 40  $\mu\text{g/dL}$ , dan 80  $\mu\text{g/dL}$ .
2. Dipipet masing-masing sebanyak 750  $\mu\text{L}$  lalu diuapkan sampai kering dengan nitrogen.

3. Reaksikan dengan 155  $\mu\text{L}$  pereaksi dan serapannya diukur pada panjang gelombang 620 nm. Dengan demikian dapat dihitung faktor koreksi karena pengaruh karoten.

**Tabel 20. Tabel Penentuan Vitamin A**

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
No	Nama	Kode	Serapan 450	Serapan 450- Blanko	Kadar Karoten	Serapan 620	Serapan 620- Blanko	Serapan 620- 15% Serapan	Kadar Vit. A
1	Blanko								
2	Standar Serum I								
3	Standar Serum II								
4	Individu I	7/SS							
5	Individu II	10/SS							
6	Individu III	9/SS							
7	Individu IV	30/SS							
8	Individu V	28/SS							
9	Blanko								

Adapun buku catatan penentuan vitamin A dengan 10 kolom seperti pada tabel 20. Dari standar vitamin A dapat dihitung faktor perhitungan vitamin A dan dari standar karoten dapat dihitung faktor perhitungan karoten dengan prinsip :

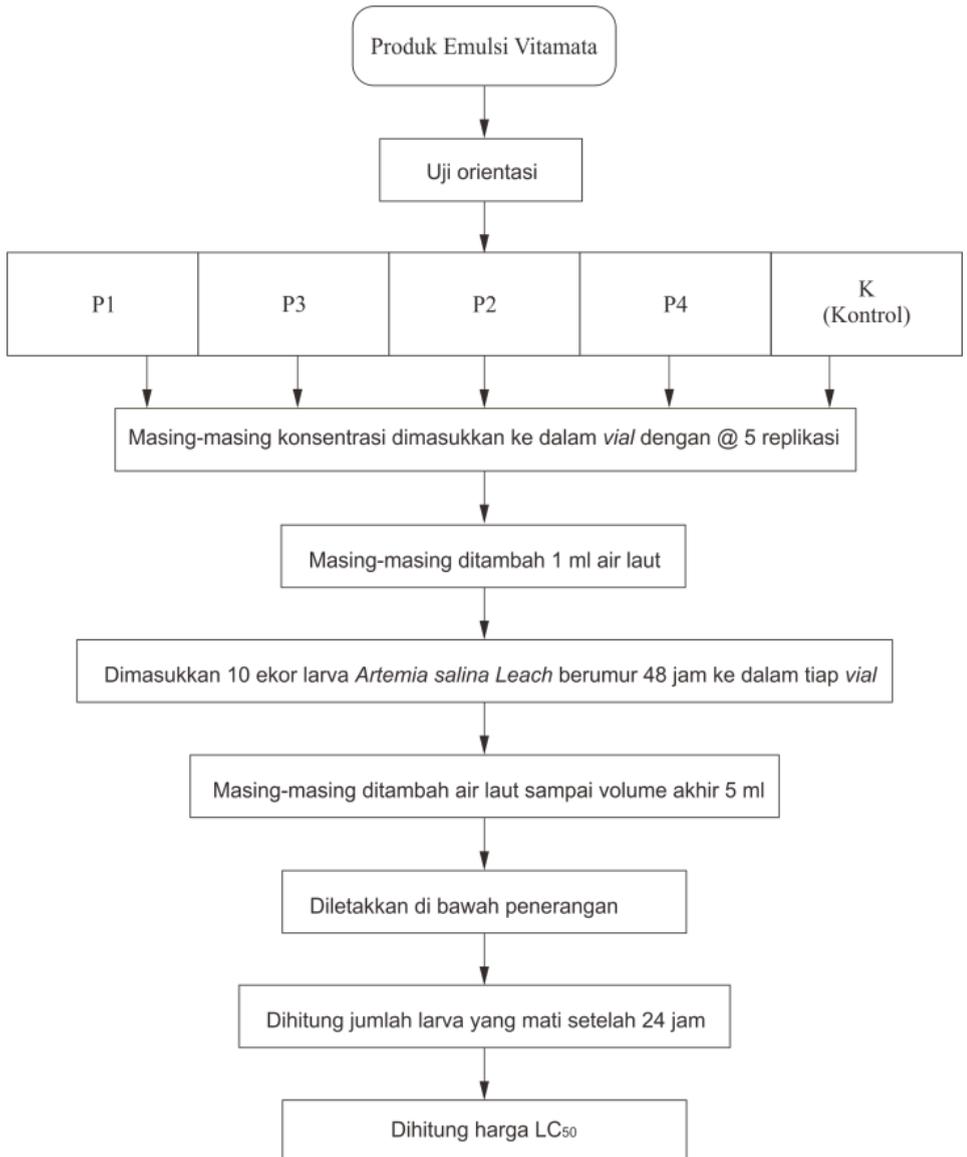
$$\frac{\text{serapan sampel}}{\text{serapan standar}} \times \text{konsentrasi standar}$$

### Uji Toksisitas

Metode yang digunakan pada pengujian toksisitas ialah *Brine Shrimp Test* (BST) (Hendrawati, 2009). Uji toksisitas ini dapat diketahui

dari jumlah kematian larva *A. salina*. karena pengaruh ekstrak atau senyawa yang menjadi sampel pengujian. Suatu ekstrak dinyatakan bersifat toksik menurut metode BST ini jika memiliki  $LC_{50}$  kurang dari 1000  $\mu\text{g/mL}$ . Nilai  $LC_{50}$  merupakan nilai yang menunjukkan besarnya konsentrasi suatu bahan uji yang dapat menyebabkan 50% kematian jumlah hewan uji setelah perlakuan 24 jam.

Langkah pertama pengujian dilakukan dengan pembuatan larutan induk konsentrasi 5% atau 50.000  $\mu\text{g/mL}$  dengan cara mencampur 5 g produk ditambah air laut sampai 100 mL dengan labu takar. Kemudian dilakukan uji trial atau orientasi dahulu untuk menentukan konsentrasi yang efektif digunakan membunuh larva *Artemia salina* Leach. dengan uji coba menggunakan konsentrasi desimal, yaitu 1%, 0,5%, 0,2%, 0,1%, dan 0,05%. Setelah dilakukan trial atau uji orientasi, akan didapatkan konsentrasi terkecil yang dapat menyebabkan kematian pada hampir semua larva. Berdasarkan hasil uji orientasi tersebut, dapat ditetapkan konsentrasi tertinggi yang akan digunakan pada perlakuan (*definitive test*) dan replikasinya. Konsentrasi selanjutnya ditetapkan dalam P1, P2, P3, P4, dan K (Kontrol).



**Gambar 63. Alur Pengujian Toksisitas**

Penyiapan larva *Artemia salina* dilakukan dengan menetasakan telur *Artemia salina* 48 jam sebelum dilakukan uji. Penetasan dilakukan dengan

cara merendam telur tersebut dalam air laut di dalam wadah yang diberi suplai oksigen dari aerator dan diberi penerangan dengan lampu.

**Tabel 21. Data Uji Toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach**

Kelompok Perlakuan	Konsentrasi Produk	Volume Akhir Air Laut	Jumlah kematian larva <i>Artemia salina</i> pada setiap replikasi (ekor)					Jumlah Total Kematian	Rata-rata kematian	Persentase Kematian
			g/mL	µg/mL	R1	R2	R3			
P1		5 mL								
P2		5 mL								
P3		5 mL								
P4		5 mL								
K		5 mL								

Keterangan :

P1, 2, 3, 4: Kelompok perlakuan 1, 2, 3, 4;

K: Kelompok kontrol; R1, 2, 3, 4:

Replikasi ke 1, 2, 3, 4

Pelaksanaan uji dilakukan dengan memasukkan larva *Artemia salina* yang telah berumur 48 jam ke dalam lima kelompok perlakuan yang berisi larutan P1, P2, P3, dan P4 dari ekstrak produk emulsi, serta larutan kontrol. Masing-masing tabung uji berisi 10 ekor larva *Artemia salina*. Pada saat yang bersamaan dilakukan juga replikasi dari setiap kelompok perlakuan sebanyak lima kali. Dalam penelitian ini didapatkan volume akhir setiap tabung uji sebesar 5 mL. Tabung uji kemudian diletakkan di

bawah penerangan selama 24 jam, kemudian dihitung jumlah larva *Artemia salina* yang mati.

Adapun alur uji toksisitas ini dapat dilihat pada gambar 63. Data hasil penelitian akan diolah dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Data dari uji toksisitas tersebut akan dianalisis dengan Graph Pad Prism 6 untuk mengetahui harga  $LC_{50}$ . Adapun tampilan tabel yang akan digunakan dapat dilihat pada tabel 21.

## Persiapan Analisis Metode HPLC

### Ekstraksi dengan Pelarut

Ekstraksi pelarut dilakukan sesuai dengan yang dikerjakan Fithriyah (2013). Sampel kering ditimbang sebanyak 500 g kemudian digiling dan disaring ( $\geq 80$  mesh). Sampel dibagi menjadi tiga untuk pengerjaan secara triplo, masing-masing 130 g sampel dimaserasi dengan pelarut n-heksana sebanyak 170 mL untuk menarik kandungan minyak dari dalam sampel, maserasi dilakukan berulang (kontinyu) sampai n-heksana rendaman yang dipisahkan dari sampel jernih atau tidak berwarna (kandungan minyak dalam sampel sudah habis atau hampir habis). Selanjutnya, ditambahkan  $Na_2SO_4$  anhidrat untuk menghilangkan sisa air yang ikut tersari dari dalam sampel. Ekstrak n-heksana hasil maserasi kemudian diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* suhu  $\leq 40$  °C, hingga

didapatkan minyak kental dan aroma n-heksana tidak tercium. Selanjutnya, rendemen minyak dihitung. Kandungan  $\alpha$ -tokoferol selanjutnya dikuantifikasi dengan metode kromatografi.

### Kandungan Beta-Karoten Metode HPLC

Sampel emulsi dipersiapkan segar dan kemudian disimpan pada suhu 4°C tidak lebih dari tujuh hari sebelum analisis. Total karotenoid diuji menggunakan menggunakan instrumen HPLC dengan kolom C-18, dan detektor UV-Vis pada panjang gelombang 450 nm.

Preparasi dilakukan dengan mengambil sebanyak 3 gram sampel untuk ditimbang dan di-masukkan ke dalam labu erlenmeyer dan ditambahkan kloroform: metanol (2:1) sebanyak 20 mL. Selanjutnya, larutan diaduk dengan bantuan *stirrer* selama 1 jam dan disaring. Larutan kemudian ditambahkan 4 mL 0,88% NaCl dan kemudian dikocok. Setelah terbentuk dua lapisan, lapisan atas dibuang dan lapisan bawah disaring menggunakan kertas saring. Larutan kemudian dievaporasi dan dihembus gas N<sub>2</sub>. Ekstrak minyak ditempatkan di dalam botol gelap dan disimpan di dalam refrigerator sampai dibutuhkan untuk dianalisis. Apabila ekstrak minyak akan dianalisis, maka terlebih dahulu minyak dipindahkan dari tempat penyimpanan, didiamkan pada suhu ruang sampai semuanya meleleh.

Kadar  $\beta$ -karoten dalam sampel ditentukan dengan metode AOAC *Official Method* 2001.13 (AOAC, 2005). Sampel sebanyak 0,1-0,25 g disaponifikasi menggunakan 10 mL etanol absolut dan 2,5 mL KOH 50% dalam aquades (b/v), kemudian dipanaskan dalam penangas air bersuhu 80°C selama 1 jam. Campuran didinginkan dan ditambah 2,5 mL asam asetat glasial. Campuran dipindahkan ke dalam labu ukur 25 mL dan volume ditepatkan dengan etanol: tetrahidrofuran 1:1 (v/v). Kemudian, sampel disaring dengan filter *syringe polyvinylidene fluoride* (PVDF) berukuran pori 0,45  $\mu\text{m}$ . Kadar  $\beta$ -karoten ditentukan dengan HPLC secara isokratik menggunakan kolom C18 atau ODS (15 cm x 4,6 cm, i.d. 5  $\mu\text{m}$ ) dan detektor UV Vis pada 450 nm. Elusi dilakukan dengan laju alir 1,0 mL/menit pada suhu ruang, menggunakan fase gerak metil diklorida:metanol:asetonitril (2:1:3) yang telah disonikasi selama 45 menit. Puncak  $\beta$ -karoten dalam sampel diidentifikasi dengan mencocokkan waktu retensi peak  $\beta$ -karoten dalam sampel dengan waktu retensi standar  $\beta$ -karoten.

## Kandungan alfa-tokoferol Metode HPLC

### Pembuatan Larutan Induk dan Kurva Standar $\alpha$ -tokoferol

Alfa-tokoferol ditimbang seksama 25 mg lalu dimasukkan ke dalam labu ukur dan dilarutkan dengan etanol sampai tanda batas, dikocok

hingga homogen. Diperoleh konsentrasi larutan induk standar  $\alpha$ -tokoferol (larutan A) sebesar 0,5 mg/mL ( $500 \mu\text{g/mL} = 500 \text{ ppm}$ ). Kemudian dilakukan pengenceran larutan induk menjadi  $10 \mu\text{g/mL}$  (larutan B) dengan mengambil 0,5 mL larutan standar  $500 \mu\text{g/mL}$  lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan dilarutkan dengan etanol:tetrahidrofuran (1:1) sampai tanda batas. Dari larutan standar 10 ppm (larutan B) dilakukan pengenceran (pembuatan deret standar) dengan konsentrasi 0,5; 1; 2; 5 dan  $10 \mu\text{g/mL}$ .

### Analisa $\alpha$ -tokoferol Metode HPLC

Sampel ditimbang seksama sebanyak 25 g dan dilarutkan dengan etanol 10 mL, lalu dicukupkan volumenya hingga 25 mL menggunakan etanol:tetrahidrofuran (1:1). Sampel dimasukkan ke dalam vial kemudian injeksikan sebanyak  $20,0 \mu\text{L}$  ke HPLC dan dicatat luas puncaknya. Percobaan diulang sebanyak dua kali. Berikut ini spesifikasi dan pengkondisian HPLC: detektor UV/vis pada panjang gelombang 280 nm, secara isokratik menggunakan kolom C18 (Phenomenex, panjang 28 cm, diameter  $5 \mu\text{m}$ ), fase gerak metanol, suhu kolom  $25^\circ\text{C}$ , kecepatan aliran  $1,0 \mu\text{L/min}$ .

Kadar  $\alpha$ -tokoferol dalam sampel dihitung berdasarkan persamaan kurva kalibrasi yang telah diperoleh:

$$Y = a + bx$$

Y = Luas puncak

x = konsentrasi  $\alpha$ -tokoferol  $\mu\text{g}/\text{ml}$

Konsentrasi  $\alpha$ -tokoferol dalam sampel minyak menjadi:

$$x = \frac{y - a}{b}$$

Kadar  $\alpha$ -tokoferol dihitung dengan rumus:

$$x (\mu\text{g}/\text{mL}) * (\Sigma \text{ mL pelarut} / \text{sampel yang ditimbang})$$

### Spiking Sampel untuk Konfirmasi Metode HPLC

Untuk mengkonfirmasi hasil, satu sampel perlu ditambahkan dengan standar  $\beta$ -karoten atau  $\alpha$ -tokoferol untuk memastikan bahwa *peak* yang diukur adalah untuk standar yang digunakan.

### Kandungan Asam Organik Volatil Metode GC

Kandungan asam organik volatil dilakukan dengan metode Sukla *et al* (2010). Untuk standar, disiapkan larutan stok asam malat 2%, asam laktat 1 %, asam asetat 1 %, asam sitrat 0,1 %, asam piroglutamat 0,1 %, asam fumarat 0,1 %, dan asam askorbat 0,4 %, masing-masing dalam 10 mL *triple distilled pure water*.

Untuk ekstraksi asam organik yang mudah menguap, 10 g masing-masing sampel dihomogenisasi dengan 20 ml *triple distilled pure water* dan kemudian disaring dengan kertas Whatman No 2, diikuti dengan sentrifugasi pada 10.000 G selama 30 menit. Selanjutnya, 0,37  $\mu\text{l}$  dari 2%

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ditambahkan ke dalam 0,7 ml filtrat, untuk membuat konsentrasi akhir 0,1% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan disaring melalui 0,22 µm filter membran (Syringe, 25 mm, 0,2 µm). Akhirnya, 2 µl dari masing-masing sampel dan standar yang disuntikkan ke kromatografi gas (GC) secara terpisah.

Kondisi analisis GC untuk penentuan asam organik yang mudah menguap adalah: gas kromatografi dengan detektor *flame ionization*, kolom: 10% di *glass column* (1,2 mm x 1,5 m), suhu oven: 170°C, suhu injector: 200°C, suhu detektor: 200°C dan gas pembawa: He (0,9 ml/menit).

### Kandungan Asam Organik Metode HPLC

Disiapkan larutan stok asam malat 2%, asam laktat 1 %, asam asetat 1 %, asam sitrat 0,1 %, asam piroglutamat 0,1 %, asam fumarat 0,1 %, dan asam askorbat 0,4 %, masing-masing dalam 100 mL buffer fosfat. Untuk masing-masing standar disiapkan 4 botol vial, masing-masing diisi dengan asam stok sebanyak 0,2 mL, 0,5 mL, 1 mL dan 2 mL, selanjutnya ditambahkan dengan larutan fosfat hingga 5 mL dan disimpan pada suhu ± 4 C selama proses penelitian. Dari konsentrasi asam organik standar, dibuat kurva standar (Luas area vs konsentrasi) (Sitorus *et al*, 2015).

Standar asam organik produk yang akan digunakan dalam penelitian ini dianalisis dengan kromatografi fasa terbalik (*reverse phase*)

menggunakan kolom C-18 5 $\mu$ m (panjang kolom 15 cm dan diameter 4,6 mm), dan dibaca pada  $\lambda=210$  nm dengan detektor UV (Nour *et al*, 2010). Sebelum diinjeksi ke dalam HPLC, standar asam organik dan sampel disaring terlebih dahulu dengan kertas saring 0,2  $\mu$ m. Analisis dilakukan pada kondisi isokratik pada suhu 40°C dengan menggunakan larutan fosfat 50 mM sebagai fasa gerak (dibuat dengan melarutkan 6,8 g kalium dihidrogen fosfat dalam 900 mL air, nilai pH diatur dengan menambahkan asam fosfat sampai 2,8 menggunakan pH meter, lalu ditambahkan dengan air hingga 1000 mL), selanjutnya disaring dengan kertas saring 0,45  $\mu$ m. laju alir fasa gerak diatur 0,7 mL/menit. Sebelum dilakukan injeksi, alat harus distabilkan terlebih dahulu.

## Daftar Pustaka

- Abdi, R. 2010. *Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologi*. Jurnal Belian. 9(2) : 196-202.
- Adiletta, G., Senadeera, W., Di Matteo, M., & Russo, P. 2013 *Drying Kinetics of Two Grape Varieties of Italy*. Bab di dalam: Goncharova-Alves, S., Alves-Filho, O., & Eikevik, T.M. (Eds.). 2013. Proceedings of the 6th Nordic Drying Conference (NDC2013), Danish Technological Institute and NTNU Trondheim (Norwegian University of Science and Technology), Danish Technological Institute, Copenhagen.
- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., Lomri, A. 2007. *Reactive Oxygen Species and Superoxide Dismutases: Role in Joint Diseases*. Joint Bone Spine 74: 324-329.
- Aghababaie, M., Beheshti, M., Khanahmadi, M. 2014. *Effect of Temperature and pH on Formulating the Kinetic Growth Parameters and Lactic acid Production of Lactobacillus bulgaricus*. Nutrition and Food Sciences Research. 1(1):49-56
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Robert, K., Walter, P. 2015. *The Cell : Sixth Edition*. Garland Science. New York.
- Almatsier, S. 2006. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Amelia, W. 2013. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Naga Merah (Hylocereus polyrhizus) dan Buah Naga Putih (Hylocereus undatus) dengan Metode DPPH*. Skripsi. Universitas Pancasila. Jakarta.
- Andarwulan, N., Kusnandar, F., dan Herawati, D. 2011. *Analisis Pangan*. Dian Rakyat. Jakarta.
- Angkasa, D. dan Sulaeman, A. 2012. *Pengembangan Minuman Fungsional Sumber Serat dan Antioksidan dari Daun Hantap (Sterculia oblongata R. Brown.)*. Skripsi. Bogor: Departemen Gizi Masyarakat Institut Pertanian Bogor.
- Ansel, C. H. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi Keempat. UI-Press, Jakarta.

- Arab, L., Susan I. Barr, Sl., Becking, GC., Beecher, GR., Orra, ST., Burk, RF., Carriquiry, AL., Chan, AC., Devaney, DI., Dwyer, JT., Erdman, JW., Habicht, J., Jacob, RA., Jialal, I., Kimbrough, RD., Kolonel, LN., Krinsky, NI., Kuhnlein, HV., Marshall, JR., Mayne, ST. 2000. *DRI Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. Food and Nutrition Board Institute of Medicine. National Academy Press. Washington DC.
- Araujo, F.V.F., Yokoyama, L., Teixeira, L.A.C., Campos, J.C. 2011. *Heterogeneous Fenton Process Using The Mineral Hematite for The Discolouration of a Reactive Dye Solution*. Brazilian J. Chem. Eng. 28(4): 605-616.
- Ari, E. S., S. Mulyani, dan R. N. Estu. 2010. *Aktifitas Antibakteri Senyawa Aktif Daun Senggani (Melastoma candidum D.Don) Terhadap Bacillus licheniformis*. Seminar Nasional Pendidikan Biologi FKIP UNS. Hal: 129-136.
- Arianti, D., Yusmarini, dan Pato, U. 2013. *Studi Pemanfaatan Kulit Cempedak dalam Pembuatan Mandai*. Jurnal Repositori Universitas Riau.
- Aulia, A. 2010. *Pengolahan Panen Kelapa Sawit (Elaeis guineensis Jacq.) Kaitannya dengan Kandungan Asam Lemak Bebas di PT. Jambi Agro Wijaya, Sarolangun, Jambi*. Thesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ayeleso, A.O., Oguntibeju, O.O., and Brooks, NL. 2012. *Effects of Dietary Intake of Red Palm Oil on Fatty Acid Composition and Lipid Profiles in Male Ristar Rats*, African Journal of Biotechnology. 11(33): 8275-8279.
- Ayustaningwarno, F. 2012. *Proses Pengolahan dan Aplikasi Minyak Sawit Merah Pada Industri Pangan*. Vitasphere. 2: 1-11.
- Bakar, M. F. A., Karim, F. A., dan Perisamy. E. 2015. *Comparison of Phytochemicals and Antioxidant Properties of Different Fruit Parts of Selected Artocarpus Species From Sabah, Malaysia*. Sains Malaysiana. 44(3) :355-363.
- Bal, L.M., Satya, S., Naik, S.N. 2010. *Solar Dryer with thermal Energy Storage Systems for Drying Agricultural Food Products: A review*. Renewable and Sustainable Energy Reviews 14: 2298–2314. doi:10.1016/j.rser.2010.04.014
- Bamidele, V. O., O. M. Adebukola, A. A. Funmlayo, and A. O. Soladoye. 2007. *Anti-inflammatory Activities of Ethanolic Extract of Carica papaya Leaves*. Research Article. Hal : 168-173.

- Banu, I., Vasilean, I. dan Aprodu, I. 2010. *Effect of Lactic Fermentation on Antioxidant Capacity of Rye Sourdough and Bread*. Food Technology Research. 16(6): 571-576.
- Bao, Z., S. Guan, C. Cheng, S. Wu, S. H. Wong, D. M. Kemeny, B. P. Leung and W. S. F. Wong. 2009. *A Novel Antiinflammatory Role for Andrographolide in Asthma via Inhibition of the Nuclear Factor- $\kappa$ B Pathway*. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 179(8): 657-665.
- Beckman JS, & Koppenol WH (1996). *Nitric Oxide Superoxide and Peroxynitrite: the Good the Bad and the Ugly*. Am J Physiol 271: C1424–1437.
- Belscak, A., D. Komes, D. Horzic, K.K. Ganic and D. Karlovic. 2009. *Comparative Study of Commercially Available Cocoa Products in Terms of Their Bioactive Composition*. Food Research International 42 : 707-716.
- Berdanier, C. D. and Zemleni, J. 2009. *Advanced Nutrition Macronutrients, Micronutrients And Metabolism*. London : CRC Press Taylor and Francis Group.
- Bidasee, K. R., Y. Zhang, C. H. Shao, M. Wang, K. P. Patel, A. D. Dincer and H. R. Besch. 2004. *Diabetes Increases Formation of Advanced Glycation End Products on Sarco(endo)plasmic Reticulum  $Ca^{2+}$ -ATPase*. Diabetes 53(2): 463-473.
- Boshra, V., and A. Y. Tajul. 2013. *Papaya-An Innovative Raw Material for Food and Pharmaceutical Processing Industry*. Health and The Environment Journal. 4(1): 68-75.
- Boubekri, A., BenMoussa, H., Mennouche, D. 2009. *Solar Drying Kinetics of Date Palm Fruits Assuming A Step-Wise Air Temperature Change*. Journal of Engineering Science and Technology 4(3): 292-304.
- Burdick, E.M. 1971. *Carpaine: An alkaloid of Carica papaya-Its Chemistry and Pharmacology*. Economic Botany. 25(4): 363-365.
- Capasso, R., Izzo, A.A., Pinto, L., Bifulco, T., Vitobello, C., Masculo, N. 2000. *Phytotherapy and Quality of Herbal Medicines*. Fitoterapia 71(Suppl1): S58-S65. doi: 10.1016/S0367-326X(00)00173-8.
- Chayari, I. dan Miliadiyah, I. 2005. *Kandungan Komponen Fenolat, Kadar Fenolat Total, dan Aktivitas Antioksidan Madu dari Beberapa Daerah di Jawa dan Sumatera*. Laporan Tahunan Hibah Bersaing. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.

- Ching, L.S., Mohamed, S. 2001. Alpha-Tocopherol Content in 62 Edible Tropical Plants. *J. Agric. Food Chem.* 49: 3101-3105. doi: 10.1021/jf000891u.
- Chua, I.Y.P, King, P.J.H., Ong, K. H., Sarbini, S. R., dan Yiu, P.H. 2015. *Influence of Light Intensity and Temperature on Antioxidant Activity in Premna serratifolia* L. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition.* 15(3): 605-614.
- Chung WH, Zhu Z, Papusha A, Malkova A, Ira G (2010) *Defective Resection at DNA Double-Strand Breaks Leads to De Novo Telomere Formation and Enhances Gene Targeting.* *PLOS Genetics* 6(5): e1000948. doi: 10.1371/journal.pgen.1000948
- Codoner-Franch, P., Valls-Belles, V., Arilla-Codoner, A., Alonso-Iglesias, E. 2011. *Oxidant Mechanisms in Childhood Obesity: The Link Between Inflammation and Oxidative Stress.* *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine.* 158(6):369-384.
- Comhair SAA, Erzurum SC. 2002. *Antioxidant Responses to Oxidant-Mediated Lung Diseases.* *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 283(2): L246-L255. doi.org:10.1152/ajplung.00491.2001
- Corsetti, A., Gobbetti, M. dan Smacchi, E. 1996. *Antibacterial Activity of Sourdough Lactic Acid Bacteria: Isolation of a Bacteriocin-Like Inhibitory Substance from Lactobacillus sanfrancisco* C57. *Food Microbiol.* 13: 447-456.
- Cowan, M.M. 1999. *Plant Product as Antimicrobial Agents.* *Clinical Mycology Review* 12(4):564-82.
- Curiel, J. A., Pinto, D., Marzani, B., Filannino, P., Farris, G. A. 2015. *Lactic Acid Fermentation as a Tool to Enhance The Antioxidant Properties of Myrtus Communis Berries.* *Microbial Cell Factories.* 2015: 14-67.
- Dajanta, K., Janpum, P. and Leksing, W. 2013. *Antioxidant Capacities, Total Phenolics and Flavonoids in Black and Yellow Soybeans Fermented by Bacillus Subtilis: A comparative study of Thai fermented soybeans (thua nao).* *International Food Research Journal.* 20(6): 3125-3132
- Daroux, M., G. Prévost, H. Maillard-Lefebvre, C. Gaxatte, V. D. D'Agati, A. M. Schmidt and É. Boulanger. 2009. *Advanced Glycation End-Products: Implications for Diabetic and Non-Diabetic Nephropathies.* *Diabetes & Metabolism* 36(1): 1-10.
- De Vugst L. & E. J. Vandamme. 1994. *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria,* *Microbiol., Genet Appl.* Blackie Acad. and Professional, London.

- Dehpour, A.A., Ebrahimzadeh, M.A., Fazel, N.S., dan Mohammad, N.S., 2009. *Antioxidant Activity of Methanol Extract of Ferula Assafoetida and its Essential Oil Composition*. *Grasas Aceites* 60(4): 405-412
- Deshpande, D. A, W. C. H. Wang, E. L. McIlmoyle, K. S. Robinett, R. M. Schillinger, S. A. Steven, J. S. K. Sham, and S. B. Liggett. 2010. *Bitter Taste Receptor on Airway Smooth Muscle Bronchodilate by Localized Calcium Singnaling and Reverse Obstruction*. *Articles Nature Medicine* 16(11): 1299-1304.
- Desmiaty, Y., Ratih H., Dewi, M.A. dan Agustin, R. 2008. *Penentuan Jumlah Tanin Total pada Daun Jati Belanda (Guazuma ulmifolia Lamk) dan Daun Sambang Darah (Excoecaria bicolor Hassk.) secara Kolorimetri dengan Pereaksi Biru Prusia*. *Ortocarpus*. 8:106-109.
- Devic E, Guyot S, Daudin J, Bonazzi C. 2010. *Kinetics of Polyphenol Losses During Soaking and Drying of Cider Apples*. *Food Bioprocess Technol* 3:867–877. DOI 10.1007/s11947-010-0361-1
- Divya, P., Puthusseri, B., Neelwarne, B. 2012. *Carotenoid Content, its Stability During Drying and the Antioxidant Activity of Commercial Coriander (Coriandrum sativum L.) Varieties*. *Food Research International* 45 (2012) 342–350. doi: 10.1016/j.foodres.2011.09.021.
- Don W, Fawcett. 2002. *Buku Ajar Histologi*. Penerjemah: dr.Jan Tambayong, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Doughari, J. H. 2012 . *Phytochemicals: Extraction Methods, Basic Structures and Mode of Action as Potential Chemotherapeutic Agents*. Hal: 1-32. Dalam: Rao, V. (ed.). *Phytochemicals-A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*. Croatia: InTech.
- Eccles, R., and O. Webet. 2009. *Common Cold*. London: Spinger.
- Edo, L. S. L., Sudrajat, and Bodhi, D. 2015. *Bioaktivitas Ekstrak Etanol Batang Karamunting (Melastoma malabathricum) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Bacillus cereus dan Salmonella enteric Serovar Typhi*. *Journal Science East Borneo*. 3(2): 17-23.
- Edwards AJ., Nguyen CH., You CS., Swanson JE., Emenhiser C., Parker RS. 2002. *Alpha-and Beta-Carotene From a Commercial Carrot Puree Are More Bioavailable to Humans Than From Boiled Mashed Carrots, As Determined Using an Extrinsic Stable Isotope Reference Method*. *Journal of Nutrition*. 132(2): 67-159.

- Efremov, G. 2013. *Describing of Generalized Drying Kinetics with Application of Experiment Design Method*. Technical Sciences 16(4): 309–322.
- El-Demery, M.E. 2011. *Evaluation of Physico-chemical Properties of Toast Breads Fortified with Pumpkin (*Curcubita moschata*) Flour*. The 6<sup>th</sup> Arab and 3<sup>rd</sup> International Annual Scientific Conference. Mesir. 13-14 April 2011. Hal : 2145-2161.
- Emmawati, A., Jenie, B. S. L. S., Nuraida, L., dan Syah., D. 2015. *Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Laktat dari Mandai yang Berpotensi sebagai Probiotik*. Agritech. 35(2): 146-155.
- Endang, H. 2015. *Analisis Fitokimia*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Erawati, C. M. 2006. *Kendali Stabilitas Beta Karoten Selama Proses Produksi Tepung Ubi Jalar (*Ipomoea Batatas L.*)*. Masters Thesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Fandra, M. D. 2014. *Perbedaan Sensitivitas Indera Pengecap Rasa manis dan Rasa Pahit Pada Perokok dan Non Perokok*. Skripsi Jurusan Kedokteran Gigi. Universitas Mahasaraswati Denpasar.
- Farhan, H., Rammal, H., Hijazi, A., Hamad, H., Daher, A., Reda, M., dan Badran. B. 2012. *Invitro Antioxidant Activity of Ethanolic and Aqueous Extracts from Crude Malva parviflora L. Grown in Lebanon*. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research 5(3): 234-238.
- Farikha, I. N., Anam, dan Widoti, E. 2013. *Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Bahan Penstabil Alami Terhadap Karakteristik Fisikokimia Sari Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Selama Penyimpanan*. Jurnal Teknosains Pangan. 2(1): 30-38.
- Faulks RM. and Southon S. 2005. *Challenges To Understanding and Measuring Carotenoid Bioavailability*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease. 1740(2): 95–100.
- Fellow, P. 2000. *Food Processing Technology, and Ed*. CRC Press. USA.
- Fennema, O. R. 1996. *Food Chemistry*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Fenton, H.J.H. 1894. LXXIII.—*Oxidation of Tartaric Acid in Presence of Iron*. J. Chem. Soc., Trans., 1894,65, 899-910. DOI: 10.1039/CT8946500899.
- Fithriyah, N. 2013. *Analisis alfa-tokoferol (Vitamin E) pada Minyak Biji Kelor (*Moringa oleifera*) secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. Skripsi.

Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.

Fitria, N. A., N. C. Sidi, R. K. Safitri, A. N. Hasanah, dan T. Risni. 2013. *Tempe Daun Pepaya sebagai Alternatif Terapi untuk Penderita Kanker*. Jurnal Teknosains Pangan. 2(4): 3-11.

Food Science and Risk Assessment Group. 2016. *Global Regulatory Environment of Health Claims on Foods*. MPI Technical Paper No: 2016/61. Ministry of Primary Industries, New Zealand Government.

Fransisca, R. L. 2015. *Penentuan Jenis Tanin Secara Kualitatif dan Penempatan Kadar Tanin dari Serabut Kelapa (Cocos nucifera L.) Secara Permanganometri*. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya. 4(1): 1-6.

Fudholi, A., Ruslan, M.H., Othman, M.Y., Zaharim, A., Sopian, K. 2013. *Mathematical Modelling of Solar Drying of Thin Layer Ginger*. Bab di dalam: Zaharim, A., Sopian, K. 2013. Latest Trends in Renewable Energy and Environmental Informatics, WSEAS.org. <http://www.wseas.org/main/books/2013/Malaysia/RESEN.pdf>

Gan, R.-Y., L. Kuang, X.-R. Xu, Y. Zhang, E.-Q. Xia, F.-L. Song and H.-B. Li. 2010. *Screening of Natural Antioxidants from Traditional Chinese Medicinal Plants Associated with Treatment of Rheumatic Disease*. Molecule 15(2010): 5988-5997.

Geetha, K. M., C. Sridhar, and V. Murugan. 2010. *Antioxidant and Gastroprotective Activities of Rhodomyrtus tomentosa (Ait.) Hassk*. International Journal of Pharmtech Research. 2(1): 284-291.

Glenn, J. V. and A. W. Stitt. 2009. The role of advanced glycation end products in retinal ageing and disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1790(10): 1109-1116.

Gomez, K. A., dan A. A. Gomez. 1995. *Prosedur Statistik Untuk Penelitian Pertanian*. UI-Press, Jakarta.

Green, R.J. 2004. *Antioxidant Activity of Peanut Plant Tissues*. Thesis. North Caroline State University: Departement of Food Science, Raleigh.

Guerra, N.P., Bernardez, P.F., Mendez, J., Cachaldora, P. dan Castro, L.P. 2006. *Production of Four Potentially Probiotic Lactic Acid Bacteria and Their*

- Evaluation as Feed Additives for Weaned Piglets*. Animal Feed Science and Technology.
- Gunhan, T., Demir, V., Hancioglu, E., Hepbasli, A. 2005. *Mathematical Modelling of Drying of Bay Leaves*. Energy Conversion and Management 46: 1667–1679. doi:10.1016/j.enconman.2004.10.001
- Gupta, S., Cox, S., Abu-Ghannam, N. 2011. *Effect of Different Drying Temperatures on the Moisture and Phytochemical Constituents of Edible Irish Brown Seaweed*. LWT-Food Science and Technology. 44(5): 1266-1272.
- Gurav, S., N. Deshkar., V. Gulkari., N. Daragkar. dan A. Patil. 2007. *Free Radical Scavenging Activity of Polygala chinensis Linn*. Pharmacologyline. 2:245-253
- Hadisoewignyo, L., dan Fudholi, A., 2007. *Studi Pelepasan In Vitro Ibuprofen dari Matriks Xanthan Gum yang Dikombinasikan dengan Suatu Crosslinking Agent*. Majalah Farmasi Indonesia. 18(3): 133-140.
- Hadriyono, K. R. P., Kurniawati, A. 2011. *Karakter Kulit Manggis, Kadar Polifenol dan Potensi Antioksidan Manggis pada Berbagai Umur Buah dan Setelah Buah Dipanen*. Skripsi. Bogor: Departemen Agronomi dan Hortikultura Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Hagerman AE. 2002. *Tannin Chemistry*. Department of Chemistry and Biochemistry. Miami University. Oxford. USA.
- Haila, K. 1999. *Effects of Carotenoids and Carotenoid Tocopherol Interaction on Lipid Oxidation In Vitro*. Disertasi. Department of Applied Chemistry and Microbiology. University of Helsinki.
- Hakim, A. 2010. *Diversity of Secondary Metabolites from Genus Artocarpus (Moraceae)*. Nusantara Bioscience. 2(3): 146-156.
- Halliwell, B. 1991. *Reactive Oxygen Species in Living Systems: Source, Biochemistry, and Role in Human*. The American Journal of Medicine Volume 91 (suppl 3C): 14-22S.
- Halliwell, B. 2001. *Free Radicals and Other Reactive Species in Disease*. Encyclopedia of Life Sciences. Nature Publishing Group.
- Halliwell, B., Cross, C.E. 1994. *Oxygen-derived Species: Their Relation to Human Disease and Environmental Stress*. Environ Health Perspect. 1994 Dec; 102(Suppl 10): 5–12.

- Hanani, E. 2014. *Analisis Fitokimia*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Handono, B. , Wirakusumah, F. , Mose, J. dan Achmad, T. 2015. *The Role of Antioxidant Vitamin C on Imminent Abortion through Interaction of Superoxide Dismutase, Interferon- $\gamma$ , Interleukin-4, Vascular Cells Adhesion Molecule-1, and Decidual Spiral Arteries Blood Flow*. Open Journal of Obstetrics and Gynecology. 5:103-114.
- Harbone, J.B., 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB. Bandung.
- Hardianzah, R. 2009. *Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Sayuran Indigenous Jawa Barat*. Skripsi Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Hariaman, A. 2008. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Penebar Swadaya: Jakarta.
- Harris, NN., Javellana, J., Davies, KM., Lewis DH., Jameson PA., Deroles, SC., Calcott, KE., Gould, KS., Echwin, KE. 2012. *Betalain Production is Possible Inanthocyanin-producing Plant Species Given the Presence of DOPA-dioxygenase and L-DOPA*. *BMC Plant Biol.* doi:10.1186/1471-2229-12-34
- Hawlder MNA, Perera CO, Tian M, dan Yeo KL. 2006. *Drying of Guava and Papaya: Impact of Different Drying Methods*, *Drying Technology* 24:1, 77-87. DOI: 10.1080/07373930500538725
- Hayashi, Y., Mangino, E. 2015. *Japan's New Health Claims Labeling System Creates Opportunities*. GAIN Report Number: JA5025. (<http://bit.ly/2kU0pqC>)
- Heitzer, T., Just, H., Muenzel, T., 1996. *Antioxidant Vitamin C Improves Endothelial Dysfunction in Chronic Smokers*. *Circulation*. 137:16. doi.org/10.1161/01.CIR.94.1.6
- Hendrawati, A. R. E. 2009. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum sanctum Linn.) Terhadap Larva Artemia salina Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)*. Thesis. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.
- Heneka, M. T. and M. K. O'Banion. 2007. *Inflammatory processes in Alzheimer's disease*. *Journal of Neuroimmunology* 184(1-2): 69-91.
- Henle, T. 2003. AGEs in foods: Do they play a role in uremia? *Kidney Int* 63(S84): S145-S147.

- Henle, T. 2005. *Protein-bound Advanced Glycation Endproducts (AGEs) as Bioactive Amino Acid Derivatives in Foods*. *Amino Acids* 29(4): 313-322.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Yayasan Sarana Wana Jaya. Jakarta.
- Hii, C.L., C.L. Law, S. Suzannah, Misnawi and M. Cloke. 2009. Polyphenols in cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Asian Journal of Food and Agro-Industry* 2 (4) : 702- 722.
- Hii, C.L., Law, C.L., Cloke, M. 2008. *Modelling of Thin Layer Drying Kinetics of Cocoa Beans during Artificial and Natural Drying*. *Journal of Engineering Science and Technology* 3(1): 1-10.
- Hikino and Kiso. 1988. In Seigler, D. S. 1998. *Plant Secondary Metabolism*. Springer Science and Business Media: Germany.
- Hock-Eng, K., Prasad, K. N., Kin-Weng, K., Jiang Y., dan Ismail, A., 2011, *Carotenoids and Their Isomers: Color Pigments in Fruits and Vegetables*, *J. Molc.*, 16, 1710-1738.
- Hof KHV., West CE., Weststrate JA., Hautvast JGAJ. 2000. *Dietary Factors That Affect The Bioavailability of Carotenoids*. *Journal of Nutrition*. 130(3): 6-503.
- Hoffmann J., Linseisen J., Riedl J, Wolfram G. 1999. *Dietary Fiber Reduces The Antioxidative Effect of a Carotenoid and a-tocopherol Mixture on LDL Oxidation ex Vivo in Humans*. *European Journal of Nutrition*. 38(6): 85-278.
- Holzafel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Bjorkroth, J., and Schillinger, 2001, *Taxonomy and Important Features of Probiotic Microorganism in Food and Nutrition*. *The American Journal of Clinical Nutrition* 73(2 Suppl):365S-373S.
- Hur, S. J., Lee, S. Y., Kim, Y. C., Choi, I., dan Kim, G. B. 2014. *Effect of Fermentation on The Antioxidant Activity in Plant-Based Foods*. *Food Chemistry*. 160: 346-356.
- Ibrahim, N. M., Mat, I., Lim, V., dan Ahmad, R. 2013. *Antioxidant Activity and Phenolic Content of *Streblus asper* Leaves from Various Drying Methods*. *Antioxidants*. 2: 156-166.
- Ida, L. 2010. *Aktivitas Antimikroba Fraksi dari Ekstrak Methanol Daun Senggani (*Melastoma candidum* D. Don) terhadap *Staphylococcus cuureus* dan*

- Salmonella typhimurium* Serta Profil Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Teraktif. Skripsi Jurusan Biologi. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Ika, T. D. K., R. Melannisa, dan A. Prasetyawan. 2014. *Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Senggani (Melastoma affine D.Don)*. Biomedika. 6(2): 22-25.
- Ikeda, H. 2016. *Update of Japanese Regulation for Health Food*. IADSA AGM, Prague.
- Ilyas, 2016. *Studi Pemberian VitaMata Terhadap Kadar Glukosa, Kolesterol Total, dan Asam Urat Darah Pada Subjek Penelitian*. Skripsi. Universitas Mulawarman.
- Ismail, J., M. R. J. Runtuwene, dan F. Fatimah. 2012. *Penentuan Total Fenolik dan Uji Aktifitas Antioksidan Pada Biji dan Buah Pinang Yaki (Areca vestiaria Giseke)*. Jurnal Ilmiah Sains. 12(2): 84-88.
- Ismarani. 2012. *Potensi Senyawa Tannin dalam Menunjang Produksi Ramah Lingkungan*. Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah.
- Isnaini, D. 2006. *Pengaruh Penambahan Karagenan Terhadap Stabilitas Minuman Fermentasi Air Kelapa Degan Menggunakan Bakteri Asam Laktat*. Skripsi. Universitas Padjadjaran.
- Isnaini, N. 2012. *Suksesi Mikroba pada Fermentasi Spontan Kelapa (Cocos nucifera)*. Tesis. Universitas Negeri Yogyakarta.
- Jacob, T., 2010. *A Tutorial on The Sense of Taste*. Cardiff University: UK. <http://www.cf.ac.uk/biosi/staffinfo/jacob/teaching/sensory/taste.html#Index>. Last update 17 Juni 2016.
- Jaswir, I., Noviendri, D., Hasrini, R.F., and Octavianti, F. 2011. *Caratenoids : Sources, Medicial Properties and Their application in Food and Nutraceutical Industry*. Journal of Medicinal Plants Research. 5(33): 7119-7113.
- Jaya. 2015. *Penilaian Organoleptik Untuk Industri Pangan dan Hasil Pertanian*. Bhratara Karya Aksara, Jakarta.
- Jayabalan R, Subathradevi P, Marimuthu S, Sathishkumar M, Swaminathan K. 2008. *Changes in Free-radical Scavenging Ability of Kombucha Tea During Fermentation*. Food Chemistry 109(1):227-34. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.12.037.

- Jayanegara, A., dan Sofyan, A. 2008. *Penentuan Aktivitas Biologis Tanin Beberapa Hijauan Secara in Vitro Menggunakan 'Hohenheim Gas Test' dengan Polietilen Glikol Sebagai Determinan*. Media Peternakan. 31(1): 44-52
- Jenny, S. 2009. *Perubahan Konsentrasi IL-1 dan Gustducin Terhadap Rasa Pengecap Pahit Pada Demam*. J. Penelit. Med. Eksakta. 8(3): 159-167.
- Johansen, M. B., L. Kiemer and S. Brunak. 2006. *Analysis and Prediction of Mammalian Protein Glycation*. Glycobiology 16(9): 844-853.
- Julianti, T., M. Oufir, and M. Hamburger. 2014. *Quantification of The Antiplasmodial Alkaloid Carpaine in Papaya (Carica papaya) Leaves*. Article in Planta Medica. 80: 1138-1142.
- Kalie. 2000. *Bertanam Pepaya*. Penebar Swadaya Jakarta.
- Kartika, B., Hastuti, P., Supartono, W. 1987. *Pedoman Uji Indrawi Bahan Pangan*. Penerbit Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Kashaninejad, M., Mortazavi, A., Safekordi, A., Tabil, L.G. 2007. *Thin-layer Drying Characteristics and Modeling of Pistachio Nuts*. Journal of Food Engineering 78: 98–108. doi:10.1016/j.jfoodeng.2005.09.007
- Kasigit, L. 2006. *Pengaruh penggunaan CMC (Carboxy Methyl Cellulose) dan Enzim Naringinase terhadap Kepahitan dan Mutu Sari Buah Jeruk Siam (Citrus nobilis var. microcarpa)*. Skripsi. Institute Pertanian Bogor: Bogor.
- Kattenberg, HR. 2000. *Nutritional Functions of Cocoa and Chocolate*. The Manufacturing Confectioner pp. 33-37
- Kedare, S. B., dan Singh, R. P. 2011. *Genesis and Development of DPPH Method of Antioxidant Assay*. Journal of Food Science and Technology. 48(4): 412–422.
- Kim, T. J., Silvia, J. L, Kim, M. K, and Jung, Y. S. 2016. *Enhanced Antioxidant Capacity and Antimicrobial Activity of Tannic and by Thermal Processing*. Food Chemistry. 118: 740-746.
- Kjær, K., D. Strøbæk, P. Christophersen and L. C. B. Rønn. 2009. *Chloride Channel Blockers Inhibit iNOS Expression and NO Production in IFN $\gamma$  Stimulated Microglial BV2 Cells*. Brain Research 1281: 15-24.
- Kleef et al. 2005. *Functional Foods: Health Claim-Food Product Compatibility and the Impact of Health Claim Framing on Consumer Evaluation*. Appetite 44 (2005) 299–308. doi:10.1016/j.appet.2005.01.009

- Kristianingrum, S. 2010. *Tinjauan Berbagai Metode Analisis Karoten dalam Bahan Pangan*. Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan, dan Penerapan MIPA. Yogyakarta. 15 Mei 2010. Hal: 233-237.
- Kurniasih, D. 2010. *Kajian Kandungan Senyawa Karotenoid, Antosianin dan Asam Askorbat Pada Sayuran Indigenous Jawa Barat*. Skripsi Institut Pertanian Bogor.
- Kurniawati, A. 2009. *Evaluasi Suplementasi Ekstrak Lerak (Sapindus rarak) Terhadap Populasi Protozoa, Bakteri dan Karakteristik Fermentasi Rumen Sapi Peranakan Ongolo Secara In Vitro*. Skripsi Peternakan Institut Pertanian Bogor.
- Kusumaningtyas, R.S., and Limantara, L. 2009. *The Isomerization and Oxidation of Carotenoid Compounds in the Oil Palm Fruit During Productions of CPO*. Indo.J.Chem. 9(1): 48-53.
- Kusumowati, I. T. D., Sudjono, T. A., Suhendi, A., Da'i, M., Wirawati, R. 2012. *Korelasi Kandungan Fenolik dan Aktivitas Antiradikal Ekstrak Etanol Daun Empat Tanaman Obat Indonesia (Piper bettle, Sauropus androgynus, Averrhoa bilimbi, dan Guazuma ulmifolia)*. Jurnal Farmasi Indonesia. 13(1) :1-5
- Larasati, L.A. 2007. *Formulasi Mikroemulsi dl-alfa-tokoferol Asetat dengan Basis Minyak Kelapa Sawit dan Uji Aktivitas Antioksidan*. Skripsi. PS Sains dan Teknologi Farmasi, Institut Teknologi Bandung.
- Lavermicocca P, F. Valeria, A. Evidente, S. Lazzaroni, A. Corsetti, & M. Gobbetti 2000. *Purification and Characterization of Novel Antifungal Compounds by Sourdough Lactobacillus plantarum 21 B*. Appl. Environ Microbiol. 66:4084- 4090.
- Lawiess, H. T., and H. Heymann. 1998. *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*. Pienum Publishers. New York.
- Lee, S., Khoo, C., Halstead, C.W., Huynh, T., Bensoussan, A. 2007. *Liquid Chromatographic Determination of 6-, 8-, 10-Gingerol, and 6-Shogaol in Ginger (Zingiber officinale) as the Raw Herb and Dried Aqueous Extract*. Journal of AOAC International 90(5): 1219-1226.
- Lempang, M., dan Suhartati. 2013. *Potensi Pengembangan Cempedak (Artocarpus integer Merr.) pada Hutan Tanaman Rakyat Ditinjau dari Sifat Kayu dan Kegunaannya*. Info Teknis Eboni. 10(2): 69-83.

- Lempang, M., Mangopang, A.D., Palalunan Dan Hajar. 2012. *Sifat Dasar dan Kegunaan Kayu Sulawesi*. Jurnal Balai Penelitian Kehutanan Makassar.
- Lewar, Y.S. 2016. *Rendemen, Sifat Kimia dan Aktivitas Antioksidan Bubuk Mandai dengan Variasi Suhu Pengeringan*. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Mulawarman: Samarinda.
- Ley, J. P. 2008. *Masking Bitter Taste by Molecules*. Chem. Percept. 1: 58-77.
- Lim, L. B. L., Chieng, H. I., dan Wimmer, F. L. 2011. *Nutrient Composition of Artocarpus champeden and Its Hybrid (Nanchem) in Negara Brunei Darussalam*. ASEAN Journal on Science and Technology for Development. 28(2): 122–138.
- Lim, T.K. 2012. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants*. Volume 3. Fruits. Springer Science Business Media: New York.
- Liochev SI, & Fridovich I (1999). *Superoxide and Iron: Partners in Crime*. IUBMB Life 48, 157–161.
- Lisqorina. Liza, P. and Diana, N. 2014. *Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Senggani (Melastoma malabathricum L) Sebagai Larvasida Aedes aegypti*. Artikel Penelitian. 37(2): 86-92.
- López J, Uribe E, Vega-Gálvez A, Miranda M, Vergara J, Gonzalez E, Di Scala K. 2010. *Effect of Air Temperature on Drying Kinetics, Vitamin C, Antioxidant Activity, Total Phenolic Content, Non-enzymatic Browning and Firmness of Blueberries Variety O'Neil*. Food Bioprocess Technol 3:772–777. DOI 10.1007/s11947-009-0306-8
- Loske, C., A. Gerdemann, W. Schepl, M. Wycislo, R. Schinzel, D. Palm, P. Riederer and G. Münch. 2000. *Transition Metal-mediated Glycooxidation Accelerates Cross-linking of Beta-amyloid Peptide*. European Journal of Biochemistry 267(13): 4171-8.
- Luterman, J. D., V. Haroutunian, S. Yemul, L. Ho, D. Purohit, P. S. Aisen, R. Mohs and G. M. Pasinetti. 2000. *Cytokine Gene Expression as a Function of the Clinical Progression of Alzheimer Disease Dementia*. Arch Neurol 57(8): 1153-1160.
- Lutfiatun, N., Sudrajat, dan Sudiastuti. 2015. *Pengaruh Ekstrak Batang Karamunting (Melastoma malabathricum Linn) Terhadap Proses Penyembuhan Luka Pada Kulit Mencit (Mus musculus L.)*. Prosiding Seminar Sains dan Teknologi FMIPA Unmul. 1(1): 1-11.

- Madrau MA, Piscopo A, Sanguinetti AM, del Caro A, Poiana M, Romeo FV, Piga A. 2009. *Effect of Drying Temperature on Polyphenolic Content and Antioxidant Activity of Apricots*. European Food Research and Technology 228: 441–448. DOI: 10.1007/s00217-008-0951-6.
- Mahattanawee, K. J. A., Manthey, G. Lucio, S. T., Talcott, K., Goodner and Baldwin, E. 2006. *Total Antioxidant Activity and Fiber Content of Select Florida-grown Tropical Fruits*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54: 7355-7363.
- Maiorini, A. F., M. J. Gaunt, T. M. Jacobsen, A. E. McKay, L. D. Waldman and R. B. Raffa. 2002. *Potential novel targets for Alzheimer pharmacotherapy: I. Secretases*. Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics 27: 169-183.
- Mal, R., Radiati, L.E., Purwadi. 2013. *Effect of Storage Duration in Refrigerator Temperature on pH Value, Viscosity, Total Lactic Acid and Profiles Protein Dissolved of Goat Milk Kefir*. Skripsi. Universitas Brawijawa. Malang.
- Malangngi, L. P., M. S. Sangi, dan J. J. E. Paedong. 2012. *Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (Persea americana mill.)*. Jurnal Mipa Unsrat Online. 1(1): 5-10.
- Marais, J. P. J., Deavours, B., Dixon, R.A., dan Ferreira, D. 2006. *The Stereochemistry Of Flavonoids*. Hal. 1-46. Dalam Grotewold, E. (ed.). The Science of Flavonoids. Springer. USA.
- Marfil PHM, Santos EM, Telis VRN. 2008. *Ascorbic Acid Degradation Kinetics in Tomatoes at Different Drying Conditions*. LWT - Food Science and Technology 41: 1642-1647. DOI: 10.1016/j.lwt.2007.11.003.
- Marinova, G., dan Batchvarov, V. 2011. *Evaluation of The Methods for Determination of The Free Radical Scavenging Activity by DPPH*. Bulgarian Journal of Agricultural Science. 17 (1): 11-24.
- Marks, D.B., Marks, A.D., dan Colleen, M.S. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis*. EGC: Jakarta.
- Marline, N., and Kasmirul. 2015. *Cytotoxicity Activity of Male Carica papaya L. Flowers on MCF-7 Breast Cancer Cells*. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 7(5): 772-775.
- Marsono, Y. 2008. *Prospek Pengembangan Makanan Fungsional*. Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi, 7(1): 19-27.

- Martin, D. W. 1981. *Harper's Review of Biochemistry, 18th ed.* Los Altos, California 94022, Lange Medical Publications.
- Martirosyan, D.M., Singh, J. 2015. A new definition of functional food by FFC: what makes a new definition unique? *Functional Foods in Health and Disease* 2015; 5(6):209-223.
- Matsuda, M., T. Tsukiyama, M. Bohgaki, K. Nonomura and S. Hatakeyama. 2007. Establishment of a newly improved detection system for NF- $\kappa$ B activity. *Immunology Letters* 109(2): 175-181.
- Meiliana, Roekistningsih, dan sutjiati, E. 2014. *Pengaruh Proses Pengolahan Daun Singkong (Manihot esculenta Crantz) dengan Berbagai Perlakuan terhadap Kadar  $\beta$ -Karoten.* Indonesian Jurnal of Humman Nutrition. 1(1): 23-34.
- Messens W & L. De Vugst. 2002. *Inhibitory Substances Produced by Lactobacilli isolated from Sourdougs- a revue.* Intl. J. Food Microbiol. 72: 31-43.
- Meyerhof, W. 2005. *Elucidation of Mammalian Bitter Taste.* Rev Physiol Pharmacol. 154: 37-72.
- Moat, A. G., Foster, J.W., dan Spector, M. P. 2002. *Microbial Physiology.* Wilwy-Liss: New York.
- Mohamad, F. M. B., N. A. Rahman, N. Khalid, A. H. Rashid, and M. M. Diah. 2014. *The Supercritical Fluid Extraction of Alkaloid From Papaya (Carica papaya L. var. Eksotika) Leaves.* Borneo Journal of Resource Science and Technology. 4(2): 35-49.
- Mojab, F., M. Poursaeed, H. Mehrgan and S. Pakdaman. 2008. *Antibacterial Activity of Thymus Daenensis methanolic Extract.* Pak. J. Pharm. Sci., 21(3): 210-213
- Molyneux, P. 2004. *The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity.* Songklanakarin Journal of Science and Technology 26(2): 211-219.
- Monnier, V. M. 2003. *Intervention Against the Maillard Reaction In Vivo.* Archives of Biochemistry and Biophysics 419(1): 1-15.
- Montenegro L, Rapisarda L, Ministeri C, Puglisi C. 2015. Effects of lipids and emulsifiers on the physicochemical and sensory properties of cosmetic emulsions containing vitamin E *Cosmetics* 2: 35-47. DOI: 10.3390/cosmetics 2010035.

- Morris, SM, Billiar, TR. 1994. *New Insights into the Regulation of Inducible Nitric Oxide Synthesis*. Am J Physiol. 266(6 Pt 1):E829-39.
- Mu'nisa, A., Wresdiyati, T., Kusumorini, N., dan Manalu. W. 2012. *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cengkeh*. Jurnal Veteriner. Vol 13(3): 272-277.
- Muhandri, T., Rahmasari, G.N., Subarna, Hariyadi, P. 2015. *Model Laju Pengeringan Spaghetti Jagung Menggunakan Tray Dryer*. J. Teknol. dan Industri Pangan 26(2): 171-178. DOI: 10.6066/jtip.2015.26.2.171.
- Mulyani, S., Sofiatun. dan Estu, R. N. 2010. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol dan Fraksi n-Heksan: Kloroform: Asam Asetat (7:2:2) Dari Daun Melastoma candidum D.Don Terhadap Pertumbuhan Salmonella typhi*. Seminar Nasional Pendidikan Biologi FKIP UNS. Hal: 144-153.
- Nazarni, R., Purnama, D., Umar, S., dan Eni, H. 2016. *The Effect of Fermentation on Total Phenolic, Flavonoid and Tannin Content and Its Relation to Antibacterial Activity in Jaruk Tigarun (Crataeva nurvala, Buch HAM)*. International Food Research Journal. 23(1): 309-315.
- Nely, F. 2007. *Aktivitas Antioksidan Rempah Pasar dan Bubuk Rempah Pabrik dengan Metode Polifenol dan Uji AOM (Active Oxygen Method)*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Nimse, SB. dan Pal, D. 2015. *Free Radicals, Natural Antioxidants and their Reaction Mechanisms*. Royal Society of chemistry. 5: 27986-28006.
- Nour, V., I. Trandafir, and M. E. Ionica. 2010. *HPLC Organic Acid Analysis In Different Citrus Juice Under Reversed Phase Condition*. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj Napoca 11:42-48
- Nur, A. F., N. C. Sidi, R. K. Safitri, A. N. Hasanah, dan T. Risni. 2013. *Tempe Daun Pepaya Sebagai Alternatif Terapi Untuk Penderita Kanker*. Jurnal Teknosains Pangan. 2(4): 3-11.
- Nur, H. S. 2009. *Sukses Mikrobiologi dan Aspek Biokimiawi Fermentasi Mandai dengan Kadar Garam Rendah*. Makara Sains. 13(1): 13-16
- Nurhayati, Siadi, K., and Harjono. 2012. *Pengaruh Konsentrasi Natrium Benzoat dan Lama Penyimpanan pada Kadar Fenolat Total Pasta Tomat*. Indonesian Journal of Chemistry Science. 1(2): 158-163.
- Nurliyana, R., Syed, Z.I., Mustapha, S.K., Aisyah, M.R., dan Kamarul, R.K. 2010. *Antioxidant Study of Pulp and Peel Dragon Fruits: A Comparative Study*. International Food Research Journal. 17: 365-375.

- Nurzeka, D.A. 2014. *Uji Toksisitas Ekstrak Pigmen Karotenoid Buah Labu Kuning (Curcubita moschata Durch) terhadap Artemia salina Leach sebagai Kandidat Antikanker*. Skripsi. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Osakabe, Sanbongi, Yamagishi, dan Takizawa. 1998a. *Effects of Polyphenol Substances Derived from Theobroma cacao on Gastric Mucosal Lesion Induced by Methanol*. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. 62: 1535- 1538.
- Osakabe, Sanbongi, Yamagishi, Takizawa, Natsume dan Osawa. 1998b. *The Antioxidative Substances in Cacao Liquor*. *Journal of Nutrition Science and Vitaminology*. 44: 313-321.
- Osakabe, Yamagishi, Natsume, Takizawa, Nakamura, dan Osawa. 2000. *Antioxidative Polyphenolic Substances in Cacao Liquor*. In Parliament, T.H., Chi-tang Ho and Schieberle, P., *Caffeinated Beverages: Health Benefits, Physiological effects, and chemistry* (pp. 88-101), ACS Symposium Series 754
- Palafox-Carlos H., Ayala-Zavala JF., Gustavo A. 2011. *The Role of Dietary Fiber in the Bioaccessibility and Bioavailability of Fruit and Vegetable Antioxidants*. *Journal of Food Science*. 76(1): 6-14.
- Pambayun, R., M. Gardjito, S. Sudarmadji, dan K. R. Kuswanto. 2007. *Kandungan Fenol dan Sifat Antibakteri Dari Berbagai Jenis Ekstrak Produk Gambir (Uncaria gambir Roxb)*. *Majalah Farmasi Indonesia*. 18(3): 141-146.
- Panjuantiningrum, F. 2009. *Pengaruh Pemberian Buah Naga Merah (Hylocereus polyrhizus) Terhadap Kadar Glukosa Tikus Putih yang Diinduksi Alokstan*. Masters thesis. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Park, E., Kim, H., Eom, S.J. dan Paik, H. 2015. *Antioxisidatif and Anticanceric Activities of Magnolia (Magnolia denudata) Flower Petal Extract Fermented by Pediococcus acidilactici KCCM 11614*. *Molecules*. 20:12154-12165.
- Pasaribu, N, Sofia, D & Indira, S. 2004. *Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Bahan Penstabil terhadap Karakteristik Minuman dari Bekatul selama Penyimpanan*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 2(1): 89-100.
- Patel, R.P., McAndrew, J., Sellak, H., White, R., Jo, H., Freeman, B.A., Darley-Usmar, V.M. 1999. *Biological Aspects of Reactive Nitrogen Species*. *Biochimica et Biophysica Acta* 1411 (1999): 385-400

- Peglow, M., Metzler, T., Lee, G., Schiffter, H., Hampel, R., Heinrich, S., Tsotsas, E. 2009. *Measurement of Average Moisture Content and Drying Kinetics for Single Particles, Droplets and Dryers*. Bab di dalam: Tsotsas, E., dan Mujumdar, A.S. 2009. *Modern Drying Technology 2: Experimental Techniques*. Wiley Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany.
- Perwiratami, C., Suzery, M. dan Cahyono, B. 2014. *Korelasi Fenolat Total dan Flavonoid Total dengan Antioksidan dari beberapa Sediaan Ekstrak Buah Tanjung (Mimusops elengi)*. Skripsi. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Petroczi, A., Taylor, G., Naughton, D.P. 2011. *Mission Impossible? Regulatory and Enforcement Issues to Ensure Safety of Dietary Supplements*. *Food and Chemical Toxicology* 49(2): 393–402. doi: 10.1016/j.fct.2010.11.014.
- Peyroux, J. and M. Sternberg. 2006. *Advanced Glycation Endproducts (AGEs): Pharmacological Inhibition in Diabetes*. *Pathologie Biologie* 54(7): 405-419.
- Pham-Huy, L.A., He, H., Pham-Huy, C. 2008. *Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health*. *Int. J. Biomed. Sci.* 4(2): 89-97.
- PORIM. 1995. *PORIM Test Methods*. Palm Oil Research Institute of Malaysia, Kuala Lumpur.
- Prasad, N.P., Yang, B., Dong, X., Jiang, G., Zhang, H., Xie, H., dan Jiang, Y., 2009. *Flavonoid Contents and Antioxidant Activities from Cinnamomum sp.* *Journals Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10: 627-632.
- Prasetyaningrum, Utami, R., Anandito, R.B.K. 2012. *Aktivitas Antioksidan, Total Fenol, dan Antibakteri Minyak Atsiri dan Oleoresin Kayu Manis (Cinnamomum burmanni)*. *Jurnal Teknosains Pangan*. 1(1): 24-31.
- Provenzano S, Spelt C, Hosokawa S, Nakamura N, Brugliera F, Demelis L, Geerke DP, Schubert A, Tanaka Y, Quattrocchio F, dan Koes R. 2014. *Genetic Control and Evolution of Anthocyanin Methylation*. *Plant Physiology* 165(3): 962-977. DOI: 10.1104/pp.113.234526
- Rafsanjani, M. K. dan Putri, W. D. 2015. *Karakterisasi Ekstrak Kulit Jeruk Bali Menggunakan Metode Ultrasonic Bath (Kajian Perbedaan Pelarut dan Lama Ekstraksi)*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(4): 1473-1480.
- Raharjo, T. J. 2013. *Kimia Hasil Alam*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta

- Rahayu, E., 2001, *Potensi Bakteri Asam Laktat di Bidang Industri Pangan*. Prosiding Seminar Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia.
- Rahmadi A, Steiner N, Muench G. 2011. *Advanced Glycation Endproducts as Gerontotoxins and Biomarkers for Carbonyl-based Degenerative Processes in Alzheimer's Disease*. Clinical chemistry and laboratory medicine 49 (3): 385-391
- Rahmadi A. 2007. *The Occurrence of Toxigenic Fungi in Cocoa Bean from Indonesia and Queensland, Australia*. Thesis S-2. University of New South Wales, Australia.
- Rahmadi, A, B.S.L. Jenie dan N. Andijaya. 2002. *Pemanfaatan Bakteri Asam Laktat untuk Meningkatkan Keamanan dan Umur Simpan Apel Malang Olah Minimal*. Prosiding Seminar Nasional PATPI. Malang
- Rahmadi, A. 2010. *Kurma*. <http://arahmadi.net/tulisan/Kurma.pdf>
- Rahmadi, A. 2013. *Establishment of High Content Co-Culture Screening for Anti-Inflammatory Drugs in Alzheimer's Diseases*. Disertasi. Departement of Pharmacology School Of Medicine: University of Western Sydney.
- Rahmadi, A., Abdiah, I., Sukarno, M. D., and Purnaningsih, T. 2013. *Karakterisasi Fisikokimia dan Antibakteri Virgin Coconut Oil Hasil Fermentasi Bakteri Asam Laktat*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. 24(2): 178-183.
- Rahmadi, A., Agustin, S., dan Rohmah, M. 2014. *Produk Olahan Emulsi Labu dan Minyak Sawit Untuk Intervensi Balita Kurang Vitamin A di Kalimantan Timur*. Laporan Hasil Penelitian Terapan Unggulan Strategis Pemerintah Provinsi Kalimantan Timur. Laporan Hasil Penelitian. Universitas Mulawarman. Samarinda.
- Rahmadi, A., dan Zahid, M. 2010. *Mengatasi Produk Akhir Glikasi Protein: Mencari, Memanfaatkan dan Melestarikan Obat-obatan Asal Hutan Tropis yang Meyembuhkan Penyakit Degeneratif*. <http://bit.ly/2mrbM9E>
- Rahmadi, A., Ilyas, Santoso, A., Agus, F., Setiawan, H., Murdianto, W. 2017. *Control of Hybrid Sun-Electrical Dryer for Agricultural Materials with Inexpensive Open Hardware Platform*. International Journal of Science and Engineering. Submitted manuscript.
- Rahmadi, A., Setiawan, H., Santoso, A., Agus, F., Murdiyanto, W. 2016a. *Laju Pengeringan Bahan Herbal dengan Prototipe Pengering Hibrid Tenaga*

*Matahari dan Listrik*. Prosiding Seminar Nasional 2016 PATPI Makassar, Sulawesi Selatan, 18-20 Agustus 2016.

- Rahmadi, A., Puspita, Y., Nursayekti, D., Sinaga, I.S., Otalina, R., Setiawan, H., Murdianto, W. 2016b. *Fenolik, Antioksidan, dan Antibakteri Kulit Buah Lepisanthes alata Kering*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan (accepted, dalam proses terbit).
- Rahmadi, A., Ilyas., Agustin, S., Rohmah, M., Saragih, B. 2016c. *Desain Produk Suplemen Labu dan Minyak Sawit Merah untuk Pencegahan Kekurangan Vitamin A*. Indonesian Scholars Journal.
- Rahmawati, N. D. 2015. *Aktivitas Antioksidan dan Total Fenol Teh Herbal Daun Pacar Air (Impatiens balsamina) Dengan Variasi Lama Fermentasi Dan Metode Pengeringan*. Skripsi. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Surakarta: Surakarta.
- Ramadhani, G.A., Izzati M., dan Parman, S. 2012. *Analisis Proximat, Antioksidan dan Kesukaan Sereal Makanan Dari Bahan Dasar Tepung Jagung (Zea mays L.) dan Tepung Labu Kuning (Curcubita moschata Durch)*. Buletin Anatomi dan Fisiologi 20(2): 33-45.
- Rebaya, A., Belghith, S. I., Baghdikian, B. Leddet, V. M., Mabrouki, F., Olivier, E., Cherif, J. K., dan Ayadi, M. T. 2014. *Total Phenolic, Total Flavonoid, Tannin Content, and Antioxidant Capacity of Halimium halimifolium (Cistaceae)*. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 5 (01):052-057.
- Rhee, S. J., Lee, J. E., dan Lee, C. H. 2011. *Importance of Lactic Acid Bacteria in Asian Fermented Foods*. Microbial Cell Factories. 10(1): 1-13.
- Rice, A.L. and Burn, J.B. 2010. *Moving from Efficacy to Effectiveness: Red Palm Oil's Role in Preventing Vitamin A Deficiency*. Journal of the American College of Nutrition. 29(3): 302-311.
- Riviere, S., I. Birlouez-Aragon and B. Vellas. 2010. Plasma protein glycation in Alzheimer's disease Glycoconjugate Journal 15(10): 1039-1042.
- Roberson, E. D., K. Scarce-Levie, J. J. Palop, F. Yan, I. H. Cheng, T. Wu, H. Gerstein, G.-Q. Yu and L. Mucke. 2007. Reducing Endogenous Tau Ameliorates Amyloid  $\beta$ -Induced Deficits in an Alzheimer's Disease Mouse Model. Science 316(5825): 750-754.
- Rodríguez, H., Curiel, J. A., Landete, J. M., Rivas, B. D. L., Felipe, F. L. D., Gómez-Cordovés, C., Mancheño, J. M., dan Muñoz, R. 2009. *Food Phenolics and*

- Lactic Acid Bacteria*. International Journal of Food Microbiology. 132: 79-90.
- Rohani, F. 2010. *Kajian Senyawa Antimikroba Bakteri Asam Laktat Heterofermentatif Isolat ASI*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Rohmah, L.N. 2015. *Karakteristik Fisik, Kimia dan Sensori Permen Jelly Sari Pepaya (Cacarica papaya L) dengan Variasi Konsentrasi Karagenan-Konjak Sebagai Gelling Agent*. Skripsi. Universitas Sebelas Maret. Surakarta: Surakarta.
- Rohman, A. dan Riyanto, S. 2005. *Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kemuning (Murraya paniculata (L) Jack) secara In Vitro*. Majalah Farmasi Indonesia.
- Rohmatussolihat. 2009. *Antioksidan Penyelamat Sel-sel Tubuh Manusia*. BioTrends. 4(1): 5-9.
- Rorong, J.A., Sudiarso, Prasetya, B., Poli-Mandang, J., Suryanto, Edi. 2012. *Analisis Fitokimia Limbah Pertanian Daun Cengkih (Eugenia aromatica) Sebagai Biosensitizer untuk Fotoreduksi Besi*. Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa. Surabaya.
- Rosmidah, H., S. Ilyas, and S. Hanum. 2015. *Effect of Leat Extract Haramonting (Rhodomyrtus tomentosa) to Lower Blood Sugar Levels in Mice Induced by Alloxan*. International Journal of Pharmtech Research. 8(8): 284-291.
- Saha. M.R., Hasan. S. M. R., Akter. R., Hossain, M.M., Alam, M.S., Alam, M. A., Mazumder, M.E.H. 2008. In vitro free radical scavenging activity of methanol extract of the leaves of *Mimusops elengi* linn. Bangladesh Journal of Veteriner Medicine. 16(2):197-200
- Salminen, A., J. Huuskonen, J. Ojala, A. Kauppinen, K. Kaarniranta and T. Suuronen. 2008. *Activation of Innate Immunity System During Aging: NF- $\kappa$ B Signaling is the Molecular Culprit of Inflamm-aging*. Ageing Research Reviews 7(2): 83-105.
- Salminen, S. dan Wright, A.V. 2004. *Lactic Acid Bacteria, Microbiology and Functional Aspects*. New York NY (USA): Marcell Dekker, Inc.
- Salunkhe, D. 2000. *Handbook Of Food Ananlysis*. (Leo.M.L.Nollet, Ed.) (1st ed.). Marcel Dekker Inc. New York.

- Sanbongi, Osakabe, Natsume, Takizawa, Gomi, dan Osawa. 1998. *Antioxidative Polyphenols Isolated from Theobroma Cacao*. Journal of Agricultural Food Chemistry. 46: 452-457.
- Sangi, M., M. R. J. Runtuwene, H. E. I. Simbala, dan V. M. A. Makang. 2008. *Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara*. Chem. Prog. 1(1): 47-53.
- Santos PHS, dan Silva MA. 2008. *Retention of Vitamin C in Drying Processes of Fruits and Vegetables—A Review*. Drying Technology 26(12): 1421-1437. DOI: 10.1080/07373930802458911.
- Santosa, H. dan Kusmayanti, H. 2012. *Likuifasi Enzimatis  $\beta$ -karoten Sebagai Functional Food yang Terdapat Dalam Pomace Dari Buah Labu Kuning (Curcubita moschata)*. TEKNIK. 33(2): 71-85.
- Santoso, A. 2014. *Desain dan Implementasi Sistem Kontrol Alat Pengering Produk Herbal Menggunakan Mikrokontroler Berbasis Open Source*. Skripsi. FMIPA, Universitas Mulawarman: Samarinda, Indonesia.
- Santoso, U. 2016. *Antioksidan Pangan*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Saptadi, H.A. 2014. *Perbandingan Akurasi Pengukuran Suhu dan Kelembaban Antara Sensor DHT11 dan DHT22 Studi Komparatif pada Platform ATME1, AVR, dan Arduino*. Jurnal Infotel 6(2): 49-55.
- Sastrohamidjojo. 1996. *Kimia Minyak Atsiri*. Yogyakarta: Penerbit Universitas Gajah Mada.
- Saxena, M., Saxena, J., Nema, J., Singh, D., and Gupta, A. 2013. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. *Phytochemistry of Medicinal Plants*. 1(6):168-182
- Scattergood, G. 2016. *Japan moves beyond Foshu: Over 400 Products Approved Under New Health Claims Regime In Last Year*. (<http://www.nutraingredients-asia.com/Regulation-Policy/Japan-moves-beyond-Foshu-Over-400-products-approved-under-new-health-claims-regime-in-last-year>)
- Sedigheh, A., Jamal, M.S., Mahbubeh, S., Somayeh, K., Mahmoud, R., Azadeh, A., and Fatemeh, S. 2011. *Hypoglycaemic and Hypolipidemic Effects of Pumpkin (Curcubita pepo L.) on alloxan-Induced Diabetic Rats*. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 5(23): 2620-2626.

- Seeram, N. P., H. David, L. B. George, W. G. Vay Liang and M. John. 2006. *Berries. Nutritional Oncology (Second Edition)*. Burlington, Academic Press: 615-628.
- Seniwaty, Raihanah, I. K. Nugraheni, dan D. Umaningrum. 2009. *Skrining Fitokimia Dari Alang-Alang (Imperata cylindrica L. Beauv) dan Lidah Ular (Hedyotis corymbosa L. Lamk)*. Sains dan Terapan Kimia. 3(2): 124-133.
- Septiana, T.A., Muchtadi, D., dan Zakaria, F.R. 2002. *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Diklorometana dan Air Jahe (Zingiber officinale Roscoe) Pada Asam Linoleat*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. 13(2).
- Setiawan, H. 2015. *Desain Alat Pengereng Produk Pertanian Menggunakan Mikrokontroler Berbasis Open Source*. Skripsi. Faperta, Universitas Mulawarman. Samarinda.
- Setyahartini, S. 1994. *Identifikasi Senyawa Karoten pada Labu Merah (Cucurbita moschata)*. Makalah Seminar Bulanan Jurusan Budidaya Pertanian. Fakultas Pertanian. Universitas Mulawarman. Samarinda.
- Sharifi, M., dan Ebrahimzadeh, M. A. 2009. *Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of Eleven Iranian Barley Grain Varieties (Hordeum vulgare L.)*. World of Sciences Journal. 1(5): 88-94.
- Sheeja, K., P. K. Shihab and G. Kuttan. 2006. *Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of the Plant Andrographis paniculata Nees*. Immunopharmacology and Immunotoxicology 28(1): 129-140.
- Shekhar, T. C., dan Anju, G. 2014. *Antioxidant Activity by DPPH Radical Scavenging Method of Ageratum conyzoides Linn. Leaves*. American Journal of Ethnomedicine. 1(4): 244-249.
- Siems, W., Sommerburg, O., Schild, L., Augustin, W., Langhans, C., dan Wiswedel, I. 2002.  *$\beta$ -Carotene Cleavage Products Induce Oxidative Stress In Vitro by Impairing Mitochondrial Respiration*. The FASEB Journal. 16(10). <https://doi.org/10.1096/fj.01-0765fje>
- Sikarwar, M.S., B. J. Hui, K. Subramaniam, B. D. Valeisamy, L.K. Yean, dan K. Balaji. 2014. *A Review on Artocarpus Altilis (Parkinson) Fosberg (Breadfruit)*. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 4(8): 091-097.
- Singleton, V.L. dan J.A. Rossi. 1965. *Colorimetry of Total Phenolic with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagent*. American Journal of Enology and Viticulture. 16: 147.

- Siro *et al.* 2008. Functional food. *Product Development, Marketing and Consumer Acceptance—A review*. *Appetite* 51 (2008) 456–467. doi: 10.1016/j.appet.2008.05.060.
- Sisein, E. A. 2014. *Biochemistry of Free Radicals and Antioxidants*. *Scholars Academic Journal of Biosciences*. 2(2): 110-118.
- Sitorus, L., Pontoh, J., Kamu, V. 2015. *Analisis Beberapa Asam Organik dengan Metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Grace Smart RP 18 5μ*. *Jurnal MIPA Unsrat Online* 4(2): 148-152.
- Soekarto, S.T., 1985. *Penilaian Organoleptik*. Pusat Pengembangan Teknologi Pangan. IPB. Bogor.
- Soekarto, T. 1985. *Penilaian Organoleptik Untuk Industri Pangan dan Hasil Pertanian*. Bhartara Karya Aksara, Jakarta.
- Starr, F., K. Starr and L. Loope. 2003. *Melastoma candidum Asian Melastome Melastomataceae*. Laporan Penelitian. United States Geological survey- Biological Resources Division Haleakala Field Station, Maui, Hawai'i.
- Stephen, C. U., O. Emmanuel, H. C. Chukwu, and E. Chizaram. 2015. *Chemical Composition of Carica papaya Flower (Paw-Paw)*. *International Journal of Scientific Research and Engineering Studies*. 2(3): 55-57.
- Subagyo, Margino, S., Triyanto, Setyati, W.A. 2015. *Pengaruh pH, Suhu Dan Salinitas Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Asam Organik Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Intestinum Udang Penaeid*. *Ilmu Kelautan*. 20(4): 187-194
- Subhashini, R., U.S.M. Rao, P. Sumathi and G. Gunalan. 2010. *A comparative Phytochemical Analysis of Cocoa and Green Tea*. *Indian Journal of Science and Technology* 3 (2) : 188-196.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 2010. *Analisis Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty Yogyakarta Bekerja Sama dengan Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Sukla, S., Choi, T.B., Park, H., Kim, M., Lee, I.K., Kim, J. 2010. *Determination of non-volatile and volatile organic acids in Korean traditional fermented soybean paste (Doenjang)*. *Food and Chemical Toxicology* 48: 2005–2010. doi:10.1016/j.fct.2010.04.034

- Sunaryanto, R., Martius, Efrida, M., Bambang. 2014. *Uji Kemampuan Lactobacillus casei sebagai agensia probiotik*. Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia. Balai Pengkajian Bioteknologi BPPT.
- Suoth, E., H. Kaempe, dan A. Tampi. 2013. *Evaluasi Kandungan Total Polifenol dan Isolasi Senyawa Flavonoid Pada Daun Gedi Merah (Abelmoschus manihot L)*. Chem. Prog. 6(2): 86-90.
- Supariasa, I D. N., B. Bakri, dan I. Fajar. 2012. *Penilaian Status Gizi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Surono, I.S. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Yayasan Pengusaha Makanan dan Minuman Seluruh Indonesia (YAPMMI). TRICK. Jakarta.
- Surprihatin. 2010. *Teknologi Fermentasi*. UNESA University Press. Surabaya.
- Suryanto, E. 2008. *Kimia Oksigen Singlet: Sensitiser, Cahaya dan Reaktivitasnya Terhadap Asam Lemak Tak Jenuh*. Chemistry Progress. 1(2).
- Susianti, E. 2014. *Pemanfaatan Tepung Biji Cempedak (Artocarpus chempeden) Dan Tepung Biji Durian (Durio zibethinus murr ) Dalam Pembuatan Bakso Ikan*. Skripsi. Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Sumatra Utara.
- Sutomo, A. Febri, H. and M. Yuwono. 2010. *Kajian Farmakognostik Simplisia Daun Karamunting (Rhodomyrtus tomentosa) Asal Pelaihari Kalimantan Selatan*. Sains dan Terapan Kimia. 4(1): 38-50.
- Tang, Y. P., B. L. L. Linda, dan L. W. Franz. 2013. *Proximate analysis of Arthocarpus odoratissimus (Tarap) in Brunei Darussalam*. International Food Research Journal.. 20(1): 409-415.
- Terhadap Kadar Senyawa yang Berpotensi Memiliki Aktivitas dari Ekstrak Daun dan Buah Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk). Prosiding penelitian SPESIA, 150-156.
- Tjandra, O., Rusliati, T.R., Zulhipri. 2011. *Uji Aktivitas Antioksidan dan Profil Fitokimia Kulit Rambutan Rapih (Nephelium lappaceum)*. Fakultas Kedokteran. Universitas Tarumanagara
- Towaha, J. 2014. *Kandungan Senyawa Polifenol pada Biji Kakao dan Kontribusinya terhadap Kesehatan*. SIRINOV. 2(2):1-16
- Turrens JF, 2003. *Mitochondrial Formation of Reactive Oxygen Species*. J Physiol. 2003 Oct 15; 552(Pt 2): 335–344.

- Ukheyanna, E., Suryani., Roswiem, A.P. 2012. *Aktivitas Antioksidan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Tumbuhan Suruhan*. Skripsi. Bogor: Departemen Biokimia Institut Pertanian Bogor.
- Ulrich, P. and A. Cerami. 2001. *Protein Glycation, Diabetes, and Aging*. Recent Prog Horm Res 56(1): 1-22.
- Uribarri, J., S. Woodruff, S. Goodman, W. Cai, X. Chen, R. Pyzik, A. Yong, G. E. Striker and H. Vlassara. 2010. *Advanced Glycation End Products in Foods and a Practical Guide to Their Reduction in the Diet*. Journal of the American Dietetic Association 110(6): 911-916.e12.
- USDA SR-21. 2014. Nutrition Facts Pumpkin, Raw <http://nutritiondata.self.com/facts/vegetables-and-vegetable-products/2600/2>. 21 November 2014.
- Van het Hof KH., de Boer BCJ., Tijburg LBM., Lucius BRHM., Zijp I., West CE., Hautvast JGAJ., Weststrate JA. 2000. *Carotenoid Bioavailability in Humans From Tomatoes Processed in Different Ways Determined From The Carotenoid Response in The Triglyceride-rich Lipoprotein Fraction of Plasma After a Single Consumption and in Plasma After Four Days of Consumption*. Journal of Nutrition. 130(5): 96-1189.
- Vega-Gálvez A, Lemus-Mondaca R, Tello-Ireland C, Miranda M, dan Yagnam F. 2009. *Kinetic study of convective drying of blueberry variety o'neil (Vaccinium corymbosum)*. Chilean Journal of Agricultural Research, 69(2), 171–178.
- Verbeke, W. 2006. *Functional Foods: Consumer Willingness to Compromise on Taste for Health? Food Quality and Preference* 17 (2006) 126–13.
- Verheij, E.W.M Dan R.E. Coronel. 1997. *Sumber Daya Nabati Asia Tenggara 2: Buah-Buahan yang Dapat Dimakan*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Vijay, Y., P. K. Goyal, C. S. Chauhan, G. Anju, and B. Vyas. 2014. *Carica papaya Linn: An Overview*. International Journal of Herbal Medicine. 2(5): 1-8.
- Wahyuni, D.T. dan Widjanarko, S.B. 2015. *Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi Terhadap Ekstrak Karotenoid Labu Kuning dengan Metode Gelombang Ultrasonik*. Jurnal Pangan dan Agroindustri. 3(2): 390-401.
- Wahyuni, I. M. D., Muktiani, A. dan Christianto M. 2014. *Penentuan Dosis Tanin dan Saponin Untuk Defaunasi dan Peningkatan Fermentabilitas Pakan*. JITP. 3(3): 133-140

- Wahyuni, S. 2015. *Produksi dan Evaluasi Fisikokimia Sensori Fruit Leather Apel Manalagi (Mallus sylvestris Mill) dengan Variasi Xhantan Gum*. Skripsi. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Wang, Y. c., Hsing, W. H, and Wen, L. L. 2008. *Antibacterial Activity of Melastoma candidum D. Don*. LWT-Food Science and Teknologi. Hal: 1793-1798.
- Wang YC, Hsu HW. 2007. *Inhibitory Effect of Melastoma candidum D. Don Acetone Extract on Foodborne Pathogenic Bacteria Survival in Food Products*. Journal of Food Protection, Vol. 70(7): 1600–160
- Wang,Y., Walsh, C.W., Guo,J., and Zhang, J. 1991. *Maternal Levels of Prostacyclin, Thromboxane, Vitamin E, and Lipid Peroxides Throught Normal Pregnancy*. AM J Obstet Gynecol.165: 1690-1694
- Wathoni, N., Soebagio, B., Rusdiana, T. 2009. *Efektivitas Lecithin Sebagai Emulgator dalam Sediaan Emulsi Minyak Ikan*. Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran. Jatinangor.
- Wautier, J.-L. and A. M. Schmidt. 2004. *Protein Glycation: A Firm Link to Endothelial Cell Dysfunction*. Circ Res 95(3): 233-238.
- Wennermark, B., Ahlmen, H., Jaegerstad, M. 1994. *Improved Vitamin E Retention by Using Freshly Milled Whole Meal Wheat Flour during Drum-Drying*. J. Agric. Food Chem 42: 1348-1351.
- Widarta, I.W., Andarwulan, R.N., dan Haryati, T. 2012. *Optomasi Proses Deadisifikasi dalam Pemurnian Minyak Sawit Merah Skala Pilot Plant*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. 23(1): 23-36.
- Wijayakusuma, M.H. 2005. *Penyembuhan dengan Labu Parang*. Pustaka Populer Obor. Jakarta.
- Winarno, F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Winarno, M.W. dan D. Sundari. 1996. *Pemanfaatan Tumbuhan sebagai Obat Diare di Indonesia*. CDK 109: 26-33.
- Winarsi, Hery. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Kanisius. Yogyakarta.
- Winkler, J.K., Rennick, K.A., Eller, F.J., Vaughn, S.F. 2007. *Phytosterol and Tocopherol Components in Extracts of Corn Distiller's Dried Grain*. J. Agric. Food Chem. 55: 6482-6486. doi: 10.1021/jf070594q.

- Wiseman, H., Halliwell, B. 1996. *Damage to DNA by Reactive Oxygen and Nitrogen Species: Role in Inflammatory Disease and Progression to Cancer*. *Biochem. J.* (1996) 313, 17–29.
- Wolff, S. P., Z. Y. Jiang and J. V. Hunt. 1991. *Protein Glycation and Oxidative Stress in Diabetes Mellitus and Ageing*. *Free Radical Biology and Medicine* 10(5): 339-352.
- Xia, Y.-F., B.-Q. Ye, Y.-D. Li, J.-G. Wang, X.-J. He, X. Lin, X. Yao, D. Ma, A. Slungaard, R. P. Hebbel, N. S. Key and J.-G. Geng. 2004. *Andrographolide Attenuates Inflammation by Inhibition of NF- $\kappa$ B Activation through Covalent Modification of Reduced Cysteine 62 of p50*. *J Immunol* 173(6): 4207-4217.
- Xie, P., Chen, S., Liang, Y., Wang, X., Tian, R., Upton, R. 2006. *Chromatographic fingerprint analysis—a rational approach for quality assessment of traditional Chinese herbal medicine*. *Journal of Chromatography A*, 1112 (2006) 171–180. doi: 10.1016/j.chroma.2005.12.091.
- Yan, S. D., X. Chen, A. M. Schmidt, J. Brett, G. Godman, Y. S. Zou, C. W. Scott, C. Caputo, T. Frappier, M. A. Smith and *et al.* 1994. *Glycated tau protein in Alzheimer disease: a mechanism for induction of oxidant stress*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91(16): 7787-91.
- Youngson, R. 2005. *Antioksidan: Manfaat Vitamin C dan E bagi Kesehatan*. Penerbit Arcan. Jakarta.
- Yuliana, S. L. 2016. *Sifat Fisiko Kimia dan Aktivitas Antioksidan Bubuk Mandai dengan Variasi Suhu Pengeringan*. Skripsi Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Universitas Mulawarman Samarinda.
- Zeb, A. and Mehmood, S. 2004. *Carotenoids Contents from Various Sources and Their Potential Health Applications*. *Pakistan Journal of Nutrition*. 3(3): 199-204.
- Zentimer, S. 2007. *Pengaruh Konsentrasi Natrium Benzoat dan Lama Penyimpanan terhadap Mutu Minuman Sari Buah Sirsak (Annona muricata L) Berkarbonasi*. Skripsi. Universitas Sumatra Utara. Sumatra Utara.
- Zhao, H.-R., J. B. Smith, X.-Y. Jiang and E. C. Abraham. 1996. *Sites of Glycation of  $\beta$ 2-Crystallin by Glucose and Fructose*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 229(1): 128-133.

Zhou L, Cao Z, Bi J, Yi J, Chen Q, Wu X, dan Zhou M. 2016. *Degradation Kinetics of Total Phenolic Compounds, Capsaicinoids and Antioxidant Activity in Red Pepper During Hot Air and Infrared Drying Process*. Int J Food Sci Technol 51(4): 1365-2621. DOI 10.1111/ijfs.13050.

Zou, Y., Lu, Y., and Wei, D. 2004. *Antioxidant Activity of Flavonoid Rich Extract of Hypericum perforatum L. In Vitro*. Journal Agriculture and Food Chemistry. 52(16): 5032-5039.