

**PENGARUH KONJUGASI KATEKIN PADA PATI JAGUNG TERHADAP
SIFAT ANTIOKSIDAN PATI YANG DIHASILKAN**

(Skripsi)

Oleh

**SITI RESTIA SALITA
NPM 1814051061**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

ABSTRACT

EFFECT OF CATECHIN CONJUGATED INTO CORN STARCH ON THE ITS ANTIOXIDANT PROPERTIES

By

SITI RESTIA SALITA

Antioxidants are compounds that inhibit or counteract oxidation due to free radicals. Phenolic compounds, such as catechin, have been known to have strong antioxidant activity which can be conjugated to starch to produce conjugated starch with antioxidant properties. This study aims to determine the effect of the concentration of catechins conjugated into corn starch on the antioxidant properties of corn starch and to determine the best concentration of catechins that can be conjugated into corn starch to produce conjugated starch that have the highest antioxidant activity. This study was arranged in a non-factorial Completely Randomized Block Design (CRBD) with 6 treatments where the catechin concentration was consist of 0.0% (C1), 0.5% (C2), 1.0% (C3), 1.5% (C4), 2.0 % (C5) and native corn starch (C6) with 4 replications. The data obtained were subjected of analysis of variance, the homogeneity of the data was tested using Barlett test and to determine the differences between treatments, the data was further tested using the Least Significant Difference (LSD) test at a significance level of 5%. The results showed that the concentration of catechins conjugated in starch increased the total phenol and antioxidant activity of the conjugated starch. The total phenol content of catechin conjugated starch ranged from 0,1033.ppm GAE to 0,2334 ppm GAE. The antioxidant activity of catechin-conjugated starch as measured by the DPPH method ranged from 11,73% to 58,70%, measured by the ABTS method, from 3,56% to 71,73% and when measured by the *meat system* method, it ranged from 13,84% to 55,62%. Linear correlation between the concentration of catechins conjugated in corn starch with total phenol content and antioxidant activity was observed. Treatment with the addition of 2% catechin (C5) produced conjugated starch with a total phenol content of 0.2334 ppm GAE with antioxidant activity 58,70% (DPPH), 71,73% (ABTS) and 55,62% (*meat system*).

Keywords: Antioxidants, catechins, conjugation, corn starch.

ABSTRAK

PENGARUH KONJUGASI KATEKIN PADA PATI JAGUNG TERHADAP SIFAT ANTIOKSIDAN PATI YANG DIHASILKAN

Oleh

SITI RESTIA SALITA

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah atau menangkal efek oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Berbagai senyawa fenolik, seperti katekin, telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang kuat yang dapat dikonjugasikan pada pati sehingga pati yang dihasilkan memiliki sifat antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi katekin yang dikonjugasikan pada pati jagung terhadap sifat antioksidan pati jagung dan mengetahui konsentrasi katekin terbaik yang dapat dikonjugasikan pada pati jagung untuk menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi. Penelitian ini disusun dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) nonfaktorial dengan 6 perlakuan dengan konsentrasi 0,0 % (C1), 0,5% (C2), 1,0% (C3), 1,5 % (C4), 2,0 % (C5) dan pati jagung asli (C6) dengan 4 kali ulangan. Data yang diperoleh dianalisis sidik ragam untuk mendapatkan penduga ragam galat, kehomogenan data diuji dengan uji Barlett dan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan data diuji lebih lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi katekin yang dikonjugasikan pada pati meningkatkan total fenol dan aktivitas antioksidan pati yang dihasilkan. Kadar total fenol pati yang dikonjugasi dengan katekin berkisar antara 0,1033 ppm GAE hingga 0,2334 ppm GAE. Aktivitas antioksidan pati terkonjugasi katekin yang diukur dengan metode DPPH berkisar antara 11,73% hingga 58,70%, diukur dengan metode ABTS berkisar antara 3,56% hingga 71,73% dan jika diukur dengan metode *meat system* berkisar antara 13,84% hingga 55,62%. Hubungan konsentrasi katekin yang dikonjugasikan pada pati jagung dengan kadar total fenol dan aktivitas antioksidan bersifat linier. Perlakuan dengan penambahan konsentrasi katekin 2% (C5) menghasilkan pati terkonjugasi dengan kadar total fenol 0,2334 ppm GAE dengan aktivitas antioksidan 58,70% (DPPH), 71,73% (ABTS) dan 55,62% (*meat system*).

Kata Kunci: Antioksidan, katekin, konjugasi, pati jagung.

**PENGARUH KONJUGASI KATEKIN PADA PATI JAGUNG TERHADAP
SIFAT ANTIOKSIDAN PATI YANG DIHASILKAN**

Oleh

SITI RESTIA SALITA

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN**

Pada

**Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

Judul Skripsi : **PENGARUH KONJUGASI KATEKIN PADA
PATI JAGUNG TERHADAP SIFAT
ANTIOKSIDAN PATI YANG DIHASILKAN**

Nama Mahasiswa : **Siti Restia Safita**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1814051061

Program Studi : Teknologi Hasil Pertanian

Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Pertanian

MENYETUJUI

1. *Komisi Pembimbing*



Dr. Ir. Samsu Udayana Nurdin, M.Si.
NIP. 19670615 199403 1 003



Dr. Ir. Subeki, M.Si., M.Sc.
NIP. 19680409 199303 1 002

2. *Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian*

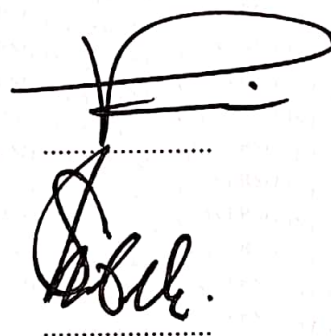


Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A.
NIP. 19721006 199803 1 005

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Dr. Ir. Samsu Udayana Nurdin, M.Si.**



Sekretaris : **Dr. Ir. Subeki, M.Si., M.Sc.**

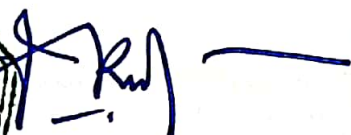
Penguji
Bukan Pembimbing : **Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP. 19841020 198603 1 002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 26 Juli 2022

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya adalah Siti Restia Salita NPM 1814051061

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil kerja saya sendiri yang berdasarkan pada pengetahuan dan penelitian yang telah saya lakukan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukan hasil dari plagiat karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 05 September 2022
Pembuat pernyataan



Siti Restia Salita
NPM 1814051061

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Tanjung Iman, Lampung Utara pada tanggal 07 Agustus 2000. Penulis merupakan anak bungsu dari lima bersaudara dari pasangan Bapak Ngadiso dan Ibu Tasminah. Penulis menyelesaikan pendidikan di Sekolah Dasar Negeri 03 Tanjung Iman, Lampung Utara pada tahun 2012, Sekolah Menengah Pertama Negeri 07 Kotabumi, Lampung Utara pada tahun 2015, dan Sekolah Menengah Atas Negeri 03 Kotabumi, Lampung Utara pada tahun 2018. Pada tahun 2018, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung melalui jalur tes tertulis atau Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Mandiri di Desa Tanjung Iman Kecamatan Blambangan Pagar Kabupaten Lampung Utara Provinsi Lampung pada bulan Februari – Maret 2021. Penulis Melaksanakan Praktik Umum (PU) di PT. Bumi Saktiperdana Laujaya di Tulang Bawang Barat pada bulan Agustus – September 2021 dengan judul laporan “Mempelajari Pengendalian Mutu Tapioka di PT. Bumi Saktiperdana Laujaya Kabupaten Tulang Bawang Barat”. Selama menjadi mahasiswa penulis aktif dalam kegiatan kemahasiswaan diantaranya Sekretaris Bidang Seminar dan Diskusi Himpunan Mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung (HMJ THP FP Unila) periode 2020/2021 dan Ketua Bidang Seminar dan Diskusi Himpunan Mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung (HMJ THP FP Unila) periode 2021/2022.

Kepada Bapak dan Mamak Tersayang

SANWACANA

Alhamdulillah *rabbi'l'aalamiin*, puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas nikmat dan ridha-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini yang berjudul “Pengaruh Konjugasi Katekin pada Pati Jagung Terhadap Sifat Antioksidan Pati yang Dihasilkan”. Selama pelaksanaan penelitian dan proses penulisan skripsi, banyak pihak yang memberikan bantuan dan motivasi kepada penulis, sehingga penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang telah memberikan bantuan untuk kelancaran proses penyusunan skripsi.
3. Bapak Dr. Ir. Samsu Udayana Nurdin, M.Si., selaku ketua komisi pembimbing dan pembimbing akademik atas bimbingan, bantuan bahan dan tempat penelitian, arahan, saran, dan motivasi yang diberikan dalam proses penelitian dan penyelesaian skripsi penulis.
4. Bapak Dr. Ir. Subeki, M.Si., M.Sc., selaku anggota komisi pembimbing atas bimbingan, arahan, saran, dan motivasi yang diberikan dalam proses penelitian dan penyelesaian skripsi penulis.
5. Ibu Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc., selaku pembahas atas saran, evaluasi, dan motivasi terhadap karya penulis.
6. Bapak dan Ibu dosen pengajar atas ilmu yang diberikan selama perkuliahan di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian.

7. Keluarga tercinta: Mamak, Bapak dan Kakak-kakak tercinta yang telah mendidik, memberikan doa, semangat, motivasi, dan selalu menyertai penulis.
8. Sahabat-sahabatku (Octavia Sopha, Cherly Silvia, Ningrum Fiqinanti) serta teman-teman terbaikku angkatan 2018, teman satu penelitian (Celly Oktaviani, Winda Vidyana), terima kasih atas segala bantuan, dukungan, semangat, motivasi, dan kasih sayang diberikan kepada penulis selama menyelesaikan skripsi.
9. Teman-teman di luar Universitas Lampung (Sasa, Riani, Fe, Salisa, Lulu, Anik, Fisca, Risa, Adila, Cindy, Hani, Amut, Rifki, Fari) terimakasih atas segala bantuan, dukungan, semangat, kebersamaan dan canda tawa selama ini.
10. Teman-teman, kakak-kakak, dan adik-adik di Himpunan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian atas dukungan semangat dan motivasi kepada penulis.
11. Semua pihak yang telah membantu serta dukungan kepada penulis selama menjalani perkuliahan dan menyelesaikan skripsi.

Penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan dan amal perbuatan semua pihak diatas. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca. *Aamiin.*

Bandar Lampung, 05 September 2022

Penulis

Siti Restia Salita

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Kerangka Pikiran	3
1.4. Hipotesis	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Stres Oksidatif	6
2.2. Pati Jagung.....	7
2.3. Katekin	8
2.4. Antioksidan	10
2.5. Free Radical Grafting.....	11
2.6. Metode Pengujian Antioksidan	14
2.6.1. Metode Peredaman DPPH.....	14
2.6.2. Metode ABTS.....	14
2.6.3. Metode TBARS (<i>Meat System</i>).....	15
III. METODOLOGI PENELITIAN	
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	16
3.2. Bahan dan Alat	16
3.3. Metode Penelitian	16
3.4. Pelaksanaan Penelitian.....	17
3.4.1. Pembuatan Larutan H ₂ O ₂ yang Mengandung Asam Askorbat.....	17
3.4.2. Persiapan Sintesis Konjugat Pati-Katekin	18

3.5. Pengamatan.....	20
3.5.1. Pengujian Total Fenol.....	20
3.5.2. Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	21
3.5.3. Aktivitas Antioksidan dengan Metode ABTS.....	22
3.5.4. Aktivitas Antioksidan dengan Metode <i>Meat System</i>	23
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Total Fenol Pati Jagung	24
4.2. Aktivitas Antioksidan Metode DPPH Pati Jagung	26
4.3. Aktivitas Antioksidan Metode ABTS Pati Jagung	29
4.4. Aktivitas Antioksidan Metode <i>Meat System</i> Pati Jagung	31
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
4.1. Kesimpulan	34
4.2. Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN.....	43

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Formulasi pati jagung dan katekin	17
2. Hasil uji lanjut BNT 5% total fenol pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin	24
3. Hasil uji lanjut BNT 5% aktivitas antioksidan DPPH pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin.....	27
4. Hasil uji lanjut BNT 5% aktivitas antioksidan ABTS pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin.....	29
5. Hasil uji lanjut BNT 5% aktivitas antioksidan <i>Meat System</i> pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin.....	32
6. Nilai absorbansi asam galat (standar total fenol) dengan spektrofotometri 760 nm	44
7. Absorbansi fenol pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin.....	45
8. Total fenol pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin setelah diplotkan kurva standar (ppm GAE)	46
9. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (<i>Barlet test</i>) total fenol pat jagung yang dikonjugasikan dengan katekin	47
10. Analisis ragam total fenol pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin	47
11. Uji beda nyata terkecil (BNT) total fenol pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin	48
12. Nilai absorbansi aktivitas antioksidan (DPPH) pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin	48

13. Total aktivitas antioksidan (DPPH) pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin yang diperoleh dari rumus perhitungan persentase aktivitas antioksidan.....	49
14. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (<i>Barlet test</i>) aktivitas antioksidan (DPPH) pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin.....	49
15. Analisis ragam aktivitas antioksidan (DPPH) pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin	50
16. Uji beda nyata terkecil (BNT) aktivitas antioksidan (DPPH) pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin	51
17. Nilai absorbansi aktivitas antioksidan (ABTS) pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin.....	51
18. Total aktivitas antioksidan (ABTS) pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin yang diperoleh dari rumus perhitungan persentase aktivitas antioksidan.....	52
19. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (<i>Barlet test</i>) aktivitas antioksidan (ABTS) pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin.....	52
20. Analisis ragam aktivitas antioksidan (ABTS) pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin	53
21. Uji beda nyata terkecil (BNT) aktivitas antioksidan (ABTS) pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin	53
22. Nilai absorbansi aktivitas antioksidan (<i>meat system</i>) pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin	54
23. Total aktivitas antioksidan (<i>meat system</i>) pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin yang diperoleh dari rumus perhitungan persentase aktivitas antioksidan.....	54
24. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (<i>Barlet test</i>) aktivitas antioksidan (<i>meat system</i>) pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin.....	55
25. Analisis ragam aktivitas antioksidan (<i>meat system</i>) pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin	55
26. Uji beda nyata terkecil (BNT) aktivitas antioksidan (<i>meat system</i>) pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur molekul amilosa	8
2. Struktur molekul amilopektin	8
3. Struktur molekul katekin.....	9
4. Proses konjugasi asam galat dengan pati	13
5. Proses pembuatan larutan sumber radikal berdasarkan Cirillo <i>et al.</i> (2012) dengan sedikit modifikasi.....	18
6. Persiapan sintesis konjugat pati-katekin menggunakan metode <i>free radical grafting</i> dengan sedikit modifikasi. (Cirillo <i>et al.</i> (2012))	19
7. Kurva standar pengujian total fenol pati jagung yang dikonjugasikan dengan katekin	44
8. Pemasukan pati jagung (a), Pembuatan larutan sumber radikal (b), Pelapisan dengan alumunium foil (c), Erlenmeyer shaker (d), Sentrifugasi (e), Penuangan ke dalam alumunium foil (f)	56
9. Pengovenan pati (a), Konjugat pati-katekin (b), Analisis total fenol konjugat pati (c), Analisis antioksidan DPPH konjugat pati (d), Analisis antioksidan ABTS konjugat pati (e), Analisis antioksidan <i>meat system</i> konjugat pati (f).....	57

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah atau menangkal efek oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas yang dapat ditemukan pada bahan-bahan alami (Tursiman dkk., 2012). Antioksidan merupakan zat yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah terjadinya proses oksidasi atau menetralkan radikal bebas (Fajriah dkk., 2007). Selain itu, antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif dan juga radikal bebas sehingga antioksidan dapat mencegah penyakit-penyakit yang berhubungan dengan radikal bebas seperti panuaan, kardiovaskuler, dan karsinogenesis (Saefudin dkk., 2013). Antioksidan akan berperan sebagai penangkal sekaligus menstabilkan radikal bebas dengan cara melengkapi kekurangan elektron radikal bebas sehingga dapat menghambat reaksi berantai (Julfitriyani dkk., 2016).

Antioksidan yang tidak seimbang dengan radikal bebas dalam tubuh akan menyebabkan kerusakan sel dan jaringan yang sering disebut dengan kondisi stres oksidatif. Hal ini disebabkan karena peningkatan radikal bebas yang tidak disertai dengan peningkatan antioksidan endogen dan eksogen, sehingga peningkatan radikal bebas sulit untuk dinetralkan (Setyaningsih dkk., 2017). Peningkatan suplai antioksidan yang cukup dapat mengatasi kondisi stres oksidatif sehingga berguna untuk mengobati penyakit kanker, kardiovaskuler, inflamasi, dan neurodegeneratif (He *et al.*, 2018). Antioksidan golongan fenol dapat menangkap radikal bebas dan mengurangi stress oksidatif. Menurut Widowati (2008) antioksidan golongan fenol seperti katekin dapat menghambat komplikasi diabetes dan pengurangan stress oksidatif. Menurut Hafshah dan Simanjuntak, (2020) senyawa katekin dapat berfungsi sebagai antioksidan dan dapat menurunkan kadar

glukosa darah. Selain itu katekin sebagai komponen utama senyawa polifenol dapat berpotensi sebagai antioksidan dan antibakteri (Lucida *et al.*, 2002). Menurut Cirillo *et al.* (2009) katekin merupakan salah satu senyawa golongan flavonoid yang bermanfaat bagi kesehatan manusia karena merupakan antioksidan yang kuat dan menjadi agen inflamasi.

Indonesia memanfaatkan pati sebagai sumber pangan. Pati dapat diperoleh dari biji-bijian, umbi-umbian, sayuran maupun buah-buahan. Salah satu sumber utama pati yaitu jagung. Jagung dalam bentuk pati telah digunakan secara luas untuk produk pangan (Mujiono dan Sholehah, 2020). Jagung merupakan salah satu sumber pati yang melimpah sebagai cadangan karbohidrat berbentuk granula kecil. Kandungan pati dalam jagung berkisar 75,12-85,27% (Firmansyah dan Aqil, 2013). Pati jagung mengandung amilosa yang cukup tinggi yaitu 50-70%. Komposisi amilosa pati jagung akan berpengaruh terhadap sifat reologi, amilografi, daya cerna, dan preferensi konsumen (Firmansyah dan Aqil, 2013). Jagung memiliki nilai indeks glikemik yang rendah yaitu 50-90 dibandingkan dengan indeks glikemik dari nasi yaitu 92 (Foster *et al.*, 2002). Namun pemanfaatan pati asli seperti pati jagung masih sangat terbatas karena sifat fisik dan kimianya yang kurang sesuai untuk digunakan secara luas. Oleh karena itu, pati akan meningkat nilai ekonomisnya jika dimodifikasi dengan sifatnya melalui perlakuan fisik, kimia, atau kombinasi keduanya (Herawati, 2011). Selain itu, pati jagung mengandung antioksidan yang rendah sehingga tidak dapat berkontribusi pada efek antioksidan dari bahan yang dihasilkan (Queiroz *et al.*, 2019).

Free Radical Grafting merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengkonjugasikan senyawa fenolik dan senyawa polisakarida. Metode ini tidak menghasilkan efek samping seperti toksik dan reaksi berlangsung dengan cepat (Curcio *et al.*, 2009). Penelitian yang dilakukan oleh Cirillo *et al.* (2012) mengkonjugasikan pati dengan kursentin menghasilkan antioksidan yang tinggi jika dibandingkan dengan pati yang tidak dikonjugasikan dengan kursentin. Namun belum diketahui informasi mengenai konjugasi pati dengan senyawa fenol lainnya seperti katekin. Berdasarkan hal tersebut pada penelitian ini akan

dilakukan usaha untuk meningkatkan aktivitas antioksidan pati jagung dengan cara mengkonjugasikannya dengan katekin menggunakan metode *Free Radical Grafting* (FRG).

1.2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi katekin yang dikonjugasikan pada pati jagung terhadap sifat antioksidan pati jagung.
2. Mengetahui konsentrasi katekin terbaik yang dapat dikonjugasikan pada pati jagung yang menghasilkan pati dengan aktivitas antioksidan tertinggi.

1.3. Kerangka Pikiran

Free Radical Grafting (FRG) merupakan metode untuk mengonjugasikan senyawa polifenol dengan polisakarida dengan sistem reaksi redoks. Konjugat polifenol dan polisakarida diseintesis dengan pasangan redoks asam askorbat dan H_2O_2 yang memiliki sifat larut air.(Curcio *et al.*, 2009). Interaksi antara komponen pasangan redoks menghasilkan rantai hidroksil, sehingga dapat menyerang atom-H pada rantai samping R-merilena (CH_2) atau gugus hidroksil (OH) dari gugus hidroksimetilen polisakarida (Mun *et al.*, 2008). Keberhasilan reaksi konjugasi tergantung pada gugus fungsional reaktif dari reagen pengkonjugasi maupun dari target molekuler. Jika salah satu tidak memiliki gugus fungsional reaktif, atau jika keduanya tidak kompatibel maka reaksi konjugasi tidak akan berhasil (Hermanson, 1996).

Konjugat polisakarida dengan polifenol dapat terjadi dengan cara sintesis dengan pasangan redoks, asam askorbat dan H_2O_2 yang merupakan bahan yang mudah larut dalam air, sehingga asam askorbat dan H_2O_2 akan berperan sebagai sistem inisiator redoks (Curcio *et al.*, 2009). Sintesis pasangan redoks dan asam askorbat akan menghasilkan radikal hidroksil. Menurut penelitian Liu *et al.* (2017) dan Shi

et al. (2017) radikal hidroksil yang dihasilkan dari reaksi fenton antara Fe^{2+} dan H_2O_2 menghasilkan radikal hidroksil, sedangkan reaksi fenton yang dihasilkan dari Fe^{2+} dan asam askorbat menghasilkan radikal hidroksil yang tinggi ketika konsentrasi Fe^{2+} dinaikkan. Pada proses konjugasi pati dengan asam galat berdasarkan penelitian Queiroz *et al.* (2019) masing-masing asam askorbat dan H_2O_2 pasangan redoksnya akan bereaksi membentuk askorbat dan radikal hidroksil. Radikal hidroksil yang dihasilkan berinteraksi dengan menyerang atom-H pada rantai samping molekul polisakarida sehingga membentuk polisakarida makro-radikal. Polisakarida makro-radikal berinteraksi dengan gugus cincin polifenol pada asam galat dan membentuk konjugat polisakarida asam galat dengan ikatan kovalen.

Metode FRG yang telah dilakukan oleh Cirillo *et al.* (2012) yaitu mengkonjugasikan pati jagung dengan quercetin sehingga menghasilkan senyawa kovalen. Semakin tinggi quercetin yang dikonjugasikan pada pati jagung maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya dibandingkan dengan pati tanpa proses konjugasi. Kelebihan dari konjugat pati jagung yang dihasilkan yaitu memiliki aktivitas antioksidan tinggi dan dapat menghambat radikal bebas. Berdasarkan penelitian Liu *et al.* (2016) metode FRG yang mengkonjugasikan senyawa katekin dengan inulin kitosan menghasilkan senyawa konjugat yang memiliki sifat anti diabetes mellitus dibandingkan dengan akarbosa. Maka dari itu perlu dilakukan penelitian yang dapat menghasilkan senyawa konjugasi pati yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Penelitian ini dilakukan dengan mengkonjugasikan senyawa katekin dengan berbagai konsentrasi pada pati jagung sehingga dapat diketahui konsentrasi yang optimal untuk menghasilkan pati dengan aktivitas antioksidan yang tinggi.

1.4. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terdapat pengaruh konsentrasi katekin yang dikonjugasikan pada pati jagung terhadap sifat antioksidan pati jagung.
2. Terdapat konsentrasi katekin terbaik yang dapat dikonjugasikan pada pati jagung yang menghasilkan pati dengan aktivitas antioksidan tertinggi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Stres Oksidatif

Stres oksidatif merupakan ketidakseimbangan antara reaktif oksigen spesies (ROS) dan spesies nitrogen reaktif (RNS) menghasilkan kerusakan DNA dan protein oksidasi di dalam sel. ROS yang dihasilkan membuat stres oksidatif akan menyebabkan gangguan fungsi dalam mekanisme normal dan seluler (Lopez *et al.*, 2013). Status stres oksidatif dinilai dengan mengukur tingkat kerusakan oksidatif pada lipid, protein, dan DNA yang dapat diukur dengan biomarkers yang spesifik. Peningkatan produksi ROS menginduksi kerusakan jaringan melalui satu mekanisme yang mengaktifkan sejumlah jalur persinyalan seluler (Nike, 2012). ROS terdapat dalam bentuk oksigen, radikal hidroksil (OH), asam hipoklorit (HOCL), radikal alkosil dan radikal peroksil

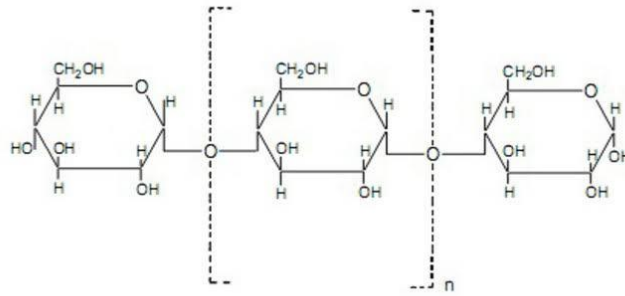
ROS dapat merusak sel dengan merusak dengan merusak membran lipid melalui serangkaian reaksi kimia yang disebut peroksidasi lipid. Hal ini terjadi karena membran sel mengandung asam lemak tak jenuh ganda (Polyunsaturated Fatty Acid-PUFA) dalam jumlah tinggi (Halliwell and Guttidge., 2007). Peningkatan radikal bebas atau ROS secara umum dan dalam kondisi hiperglikemia juga diketahui dapat mengakibatkan disfungsi jantung, penyakit kardiovaskuler, apoptosis dan nekrosis jantung. Diduga antioksidan dapat membersihkan radikal bebas dan mencegah radikal bebas merusak sel. Radikal bebas bertanggung jawab menyebabkan sejumlah besar masalah kesehatan seperti kanker, penuaan, penyakit kardiovaskuler, dan gangguan pencernaan. Antioksidan memiliki efek protektif dengan menetralkan radikal bebas yang bersifat toksik dengan memproduksi metabolisme sel alami.

2.2. Pati Jagung

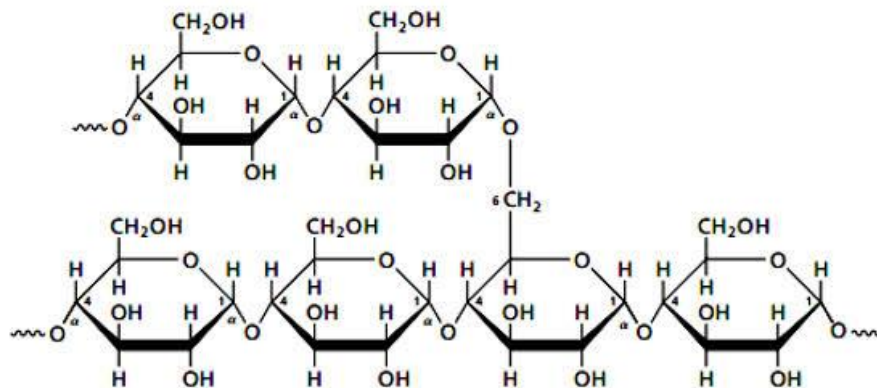
Pati merupakan sumber utama karbohidrat dalam pangan berupa polisakarida yang tersimpan dalam jaringan makanan, berupa granula dalam kloroplas daun dan dalam amiloplas pada biji dan umbi (Sajilata *et al.*, 2006). Pati merupakan homopolimer yang tersusun dari banyak glukosa dengan ikatan yang bernama ikatan glikosidik. Ikatan glikosidik adalah ikatan yang menyatukan antara dua monosakarida sehingga membentuk disakarida. Pati adalah jenis karbohidrat yang merupakan polimer glukosa yang terdiri atas amilosa dan amilopektin (Herawati, 2011).

Pati terdiri dari dua senyawa polimer glukosa yaitu amilosa dan amilopektin. Bobot molekul amilosa dan amilopektin bergantung pada sumber botani amilosa yang merupakan komponen berantai lurus, sedangkan amilopektin berantai cabang. Amilosa merupakan polisakarida berantai lurus berbentuk heliks dengan ikatan glikosidik alfa 1,4. Titik percabangan amilopektin merupakan alfa-1,6. Jumlah molekul glukosa pada rantai amilosa berkisar antara 250-350 unit (Firmansyah dan Aqil, 2013). Pati adalah karbohidrat yang tidak larut dalam air, bersifat tawar dan tidak berbau. Karakteristik struktur polimer pati seperti berat molekul, derajat percabangan, dan panjang rantai mempengaruhi sifat fisiknya (Han *et al.*, 2004).

Salah satu sumber tanaman penghasil pati yaitu jagung. Jagung memiliki beragam jenis amilum yaitu amilosa dan amilopektin. Pati merupakan komponen utama dalam biji jagung sekitar 72-73% dari total berat (Wani *et al.*, 2010). Jagung memiliki nilai indeks glikemik yang rendah yaitu 50-90 dibandingkan dengan indeks glikemik dari beras yaitu 50-120. Menurut Suarni dan Yasin (2011), produk olahan jagung sangat dianjurkan bagi kelainan jantung. Serat pangan pada jagung mampu menurunkan kadar kolesterol dalam plasma darah dengan cara meningkatkan ekskresi asam empedu ke feses, kemudian kolesterol dalam darah dikonversi menjadi asam empedu dalam hati. Struktur amilum pada pati jagung yaitu amilosa dan amilopektin dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Struktur molekul amilosa
Sumber : Hee, 2005



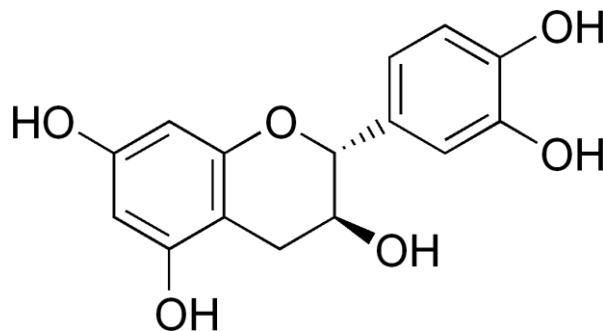
Gambar 2. Struktur molekul amilopektin
Sumber : Hee, 2005

2.3. Katekin

Katekin adalah antioksidan fenolik yang biasa ditemukan dalam cokelat, anggur merah, teh hijau, buah-buahan (aprikot atau ceri), dan sayuran termasuk kacang polong. Katekin makanan terdiri dari berbagai jenis seperti catechin, epicatechin, epigallocatechin, epicatechin gallate, dan epigallocatechin gallate (Muzolf-Panek *et al.*, 2012). Dalam hierarki tanin, kelompok katekin menempati posisi perantara (Arunachalam *et al.*, 2003). Sintesis katekin melibatkan jalur asam asetat-malonat dan asam sikimat-sinamat pada daun tanaman *Camellia sinensis* (Vuong *et al.*, 2010). Oksidasi flavonoid sangat menarik karena sifat antioksidan dengan kemampuan menangkap radikal melalui proses transfer elektron (Janeiro and

Brett, 2004). Berbagai jenis metode untuk pemisahan dan pemurnian katekin melibatkan pemisahan membran, ekstraksi fase padat, pengendapan kafein, adsorpsi resin, ekstraksi cairan superkritis, dan kromatografi kolom (Vuong *et al.*, 2010). Katekin memiliki sifat antitumorigenik dan memiliki potensi modulasi kekebalan dalam kasus tumor yang ditransplantasikan atau pengobatan karsinogen (Chacko *et al.*, 2010).

Katekin memiliki sifat larut dalam air, tidak berwarna, dan tidak memberikan rasa pahit. Katekin merupakan senyawa yang serupa dengan tanin terkondensasi yang disebut polifenol karena gugus hidroksil yang dimilikinya. Katekin memiliki sifat fitokimia yang menjadi tantangan dalam aplikasinya sebagai bahan alam. Katekin memiliki rumus kimia $C_{15}H_{14}O_6$, tidak berwarna dalam keadaan murni, larut dalam alkohol dan etil asetat, berbentuk kristal halus seperti jarum. Katekin dalam teh dibagi menjadi dua kelompok utama yaitu proanthocyanidin dan poliester. Katekin tersusun sebagian besar atas senyawa-senyawa katekin (C), epikatekin (EC), galokatekin (GC), epigalokatekin (EGC), epikatekin galat (ECG), galokatekin (GCG), dan epigalokatekin galat (EGCG). Katekin diketahui membentuk beberapa kompleks dalam reaksi dengan kafein, protein, peptida, ion tembaga, atau siklodekstrin. Struktur kimia dari katekin dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur molekul katekin
Sumber : Ahmadi *et al.* (2020)

2.4. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat mencegah atau menangkal efek oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas yang biasanya ditemukan dalam bahan-bahan alami. Senyawa fenolik yang terkandung pada tumbuhan yang memiliki gugus hidroksi yang terikat pada cincin benzena berpotensi sebagai antioksidan (Tursiman dkk., 2012). Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan di orbit terluarnya sehingga sangat reaktif. Radikal bebas dapat menimbulkan kerusakan apabila secara terus-menerus terdapat di dalam tubuh, dikarenakan cenderung akan mengadakan reaksi berantai (Wahdaningsih dkk., 2011).

Antioksidan berdasarkan mekanisme reaksinya dapat dibagi menjadi tiga macam yaitu antioksidan primer antioksidan sekunder dan antioksidan tersier (Huang *et al.*, 2005). Antioksidan primer merupakan senyawa yang dapat menghentikan reaksi berantai dengan memberikan atom hidrogen secara cepat kepada radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk menjadi senyawa yang akan lebih stabil. Contoh dari antioksidan primer yaitu terdiri dari antioksidan alami dan sintesis. Antioksidan primer yang terdapat di dalam tubuh yaitu enzim superoksida dismutase (SOD). Fungsi dari enzim ini di dalam tubuh yaitu melindungi hancurnya sel-sel dalam tubuh akibat kerusakan dari radikal bebas (Kumalaningsih, 2007). Antioksidan primer dapat menyumbangkan atom hidrogen secara cepat pada radikal lipida dan mengubahnya dalam bentuk yang lebih stabil, sementara turunan dari radikal antioksidan memiliki keadaan yang lebih stabil dibandingkan dengan radikal lipida. Penambahan antioksidan primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Radikal antioksidan yang akan terbentuk relatif lebih stabil sehingga tidak bereaksi untuk membentuk radikal lipida yang baru (Trilaksani, 2003).

Antioksidan sekunder memiliki prinsip kerja dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya sehingga

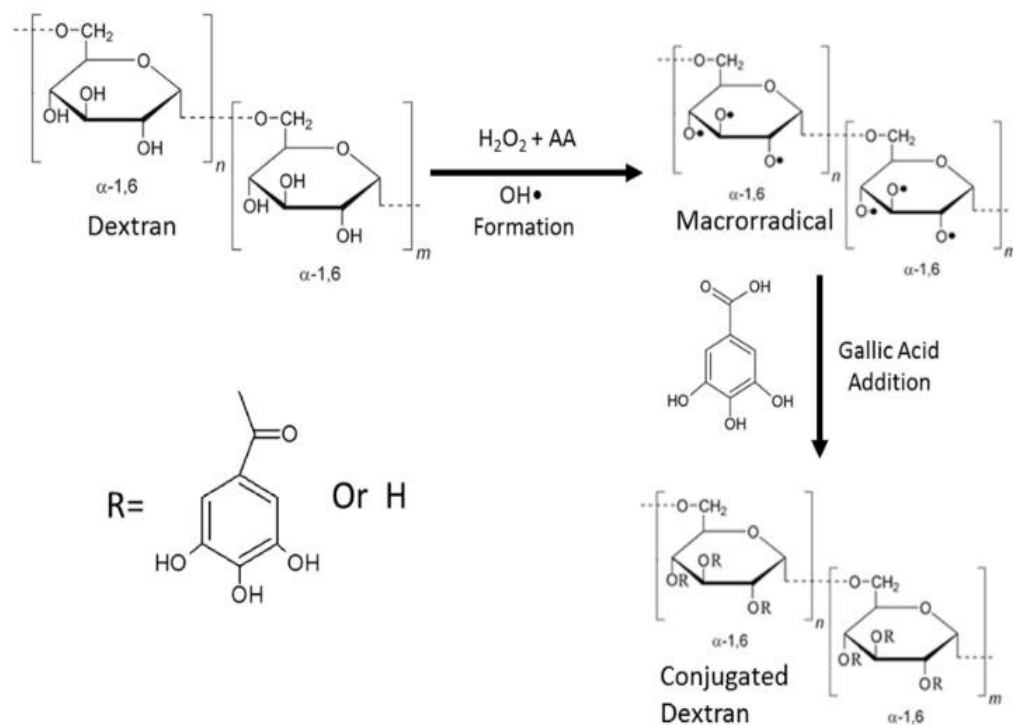
radikal bebas tidak dapat bereaksi dengan komponen seluler lainnya. Antioksidan sekunder disebut juga dengan antioksidan eksogenus atau non enzimatis. Contoh antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, dan betakaroten yang dapat diperoleh dari tumbuhan (Kesuma dan Rina, 2015). Antioksidan tersier merupakan senyawa yang dapat memperbaiki kerusakan sel atau jaringan akibat kerusakan dari radikal bebas. Contoh dari antioksidan tersier yaitu sistem enzim DNA-repair yang dapat memperbaiki DNA didalam inti sel.

2.5. Free Radical Grafting

Konjugasi (*Crosslinking*) merupakan suatu proses kimia untuk menggabungkan atau lebih molekul dengan suatu kovalen (Hayworth, 2014.). Sistem konjugasi dapat diaplikasikan untuk membuat suatu sistem termodifikasi berbasis protein yang berfungsi untuk mendeteksi, assay tracking atau mentarget suatu molekul biologi (Hermanson, 1996). Keberhasilan reaksi konjugasi tergantung pada gugus fungsional reaktif dari reagen pengkonjugasi maupun dari target molekuler. Jika salah satu tidak memiliki gugus fungsional reaktif, atau jika keduanya tidak kompatibel maka reaksi konjugasi tidak akan berhasil (Hermanson, 1996). Pencangkokan (*grafting*) merupakan teknik yang secara luas dilakukan untuk memodifikasi bahan polimer dengan mendapatkan sifat-sifat tertentu polimer yang diinginkan. Pada reaksi pencangkokan terbentuk ikatan kovalen antar monomer dengan rantai polimer. Teknik pencangkokan telah dilakukan dengan menggunakan inisiator panas, bahan kimia, radiasi, fotokimia, induksi plasma dan enzimatis (Bhattacharya and Misra, 2004). Mekanisme pencangkokan dengan inisiator radikal bebas atau *Free Radical Grafting*, merupakan metode yang dapat digunakan untuk mengkonjugasikan senyawa polisakarida dengan senyawa fenolik menggunakan sistem inisiator redoks. Radikal bebas yang dihasilkan dari inisiator dengan pengaruh panas. Kemudian radikal selanjutnya mengabstraksi atom hidrogen polimer substrat, sehingga terbentuk radikal pada molekul polimer. Selanjutnya monomer bertindak sebagai akseptor radikal membentuk kopolimer cangkok. Kemudian monomer menjadi donor radikal pada monomer tetangganya, begitu seterusnya.

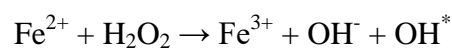
Metode pencangkakan radikal bebas telah diaplikasikan oleh Cirillo *et al.*, (2012) untuk mengkonjugasikan pati jagung dengan kuersetin sehingga menghasilkan senyawa kovalen. Kelebihan dari konjugat pati jagung yang dihasilkan yaitu aktivitas antioksidan tinggi, menghambat radikal bebas, serta mencegah penyakit Alzheimer dan diabetes. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Cho *et al.* (2011) menghasilkan senyawa konjugasi antara kitosan dan asam galat yang dapat menghambat enzim asetilkolinesterase secara signifikan. Kelebihan dari metode pencangkakan radikal bebas yaitu reaksi berlangsung cepat, ramah lingkungan, tanpa menggunakan pelarut organik dan tidak menghasilkan produk sampingan senyawa toksik.

Konjugasi antara polisakarida dan senyawa polifenol dapat terjadi dengan pasangan redoks, asam askorbat dan H_2O_2 yang berperan sebagai sistem inisiator redoks (Curcio *et al.*, 2009). Proses konjugasi pati dengan senyawa polifenol yang dilakukan oleh Queiroz *et al.* (2019) menggunakan senyawa asam galat dengan asam askorbat dan H_2O_2 yang masing-masing pasangan redoknya bereaksi membentuk askorbat dan radikal hidroksil. Radikal hidroksil yang dihasilkan berinteraksi dengan menyerang atom-H pada rantai samping molekul polisakarida sehingga membentuk polisakarida makro-radikal. Polisakarida makro-radikal akan berinteraksi dengan gugus cincin senyawa polifenol pada asam galat dan membentuk konjugat polisakarida asam galat dan ikatan kovalen. Proses konjugasi pati dengan asam galat menurut penelitian Queiroz *et al.* (2019) disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Proses konjugasi asam galat dengan pati.
Sumber : Queiroz *et al.* (2019)

Radikal bebas akan bereaksi membentuk H_2O_2 yang banyak diproduksi di mitokondria dan mikrosom serta dapat menembus membran sel. Hidrogen peroksida (H_2O_2) merupakan oksidan yang kuat karena dapat bereaksi dengan senyawa. Pada keadaan stress oksidatif terbentuk radikal bebas oksigen dan H_2O_2 yang berlebih sehingga sistem proteksi tubuh seperti enzim katalase tidak dapat menetralkan semua radikal bebas oksigen yang terbentuk. Apabila H_2O_2 bereaksi dengan Fe^{2+} maka terbentuklah radikal bebas hidroksil melalui reaksi fenton. Reaksi fenton menghasilkan sumber radikal hidroksil yang dapat mengoksidasi senyawa organik maupun inorganik. Radikal hidroksil adalah spesies yang sangat reaktif. Apabila radikal hidroksil bereaksi dengan polisakarida sehingga akan membentuk polisakarida makro-radikal. Selanjutnya polisakarida makro-radikal akan berinteraksi dengan gugus cincin polifenol membentuk konjugat polisakarida dan senyawa fenolik. Mekanisme yang terjadi dalam reaksi fenton sebagai berikut:



2.6. Metode Pengujian Antioksidan

Beberapa metode pengujian yang dapat digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan yaitu sebagai berikut:

2.6.1. Metode Penghambatan DPPH

1,1-*difenil-2-pikrihidrazil* (DPPH) merupakan radikal organik yang berwarna ungu tua dan memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 517 nm. Warna ungu tua dari radikal DPPH akan berubah menjadi berwarna kuning jika terjadi donasi hidrogen oleh senyawa antioksidan kepada radikal DPPH. Elektron tidak berpasangan dari radikal DPPH akan berpasangan dengan atom hidrogen yang disumbangkan oleh senyawa antioksidan, sehingga menyebabkan radikal DPPH menjadi non-radikal (Prakash, 2001). Dengan demikian, aktivitas penangkapan radikal dapat dihitung dari peluruhan radikal DPPH secara spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Winarsi, 2007).

Metode uji aktivitas antioksidan DPPH memiliki kelebihan yaitu metode sederhana, mudah, cepat, dan peka hanya memerlukan sedikit sampel untuk evaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam sehingga digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron. Prinsip dari metode ini adalah pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif yaitu dengan melakukan pengukuran penangkapan radikal DPPH oleh senyawa yang memiliki potensi sebagai antioksidan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Molyneux *et al.*, 2004)

2.6.2. Metode ABTS

2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6 sulfonic acid (ABTS) merupakan radikal kation yang digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometri. Metode ABTS merupakan salah satu senyawa radikal yang mengandung atom nitrogen. Prinsip pengujian adalah menstabilkan radika bebas

melalui donor proton. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan krim krim warna ABTS yang semula berwarna hijau akan berubah (*decolorization*) menjadi tidak berwarna akibat tereduksi oleh radikal bebas. Intensitas warna yang terbentuk kemudian diukur menggunakan spektrofotometri-Vis pada panjang gelombang 734 nm. Kelebihan metode ini yaitu absorbansi spesifik pada panjang gelombang terlihat dan waktu reaksi yang lebih cepat. ABTS dapat dilarutkan dalam pelarut organik maupun udara sehingga dapat mendeteksi senyawa yang bersifat lipofilik maupun hidrofilik, namun pengujian menggunakan ABTS tidak memberikan gambaran sistem pertahanan tubuh terhadap radikal bebas sehingga ABTS hanya dapat dijadikan sebagai metode pembandingan karena tidak mewakili sistem biologi tubuh (Karadag *et al.*, 2009).

2.6.3. Metode TBARS (*Meat System*)

Test Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) merupakan pengukuran kromogen yang dihasilkan dari reaksi antara thiobarbituric acid (TBA) dan malondialdehid yang diukur dengan spektrofotometer. Prinsip pengujian berdasarkan kepada kemampuan pembentukan kompleks berwarna merah muda antara MDA dan asam tiobarbiturat (TBA). Fungsi pengujian TBARS adalah mengukur peroksidasi yang terjadi pada membran lipid sehingga MDA yang terikat akan dibebaskan dan akan bereaksi dengan TBA dalam suasana asam membentuk kompleks MDA-TBA yang berwarna merah. Kompleks warna yang terbentuk pada metode TBARS dapat diukur absorbansinya dengan spektrofotometri pada gelombang 532 nm (Jardine *et al.*, 2002).

Metode TBARS merupakan metode yang sering digunakan untuk mengukur peroksidasi lipid dan radikal bebas. Metode TBARS memiliki sifat yang cukup sensitif, mudah dikerjakan sehingga banyak digunakan dalam keperluan uji klinis yang dapat merefleksikan kondisi pasien secara klinis pada umumnya. Uji TBA selain mengukur kadar MDA yang terbentuk karena proses peroksidasi lipid, uji ini juga mengukur kadar produk aldehyd lainnya termasuk non-volatil yang terjadi akibat panas yang ditimbulkan pada saat pengukuran kadar MDA plasma (Ramatina dkk., 2014)

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Analisis Hasil Pertanian dan Laboratorium Pengolahan Limbah Agroindustri, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2022 hingga Mei 2022.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan yaitu pati jagung (Sigma-Aldrich), katekin (Sigma-C1251), H_2O_2 *food grade* 30% ((AR)Merck 107209), asam askorbat (Sigma-Aldrich), akuades, Fe_2SO_4 . Bahan yang digunakan untuk analisa antara lain etanol 96%, akuades reagen Folin Ciocalteu, bubuk DPPH (1,1-*difenil-2-pikrilhidrazil*), bubuk ABTS (2,2-*azinobis (3-etibenzotiazolin)-6-asam sulfonat*), Na_2CO_3 2%, $K_2S_2O_8$, $Fe_2SO_4 \cdot 7H_2O$ (5 mM), H_2O_2 *food grade* (100 mM), asam galat, NaCl 0,85%, TCA (Trichloro acid), TBA (Tiobarbiturat acid), alumunium foil, potongan daging sapi cincang,

Alat yang digunakan antara lain neraca analitik, magnetic stirrer, erlenmeyer shaker, oven, pipet tip, beaker glass, erlenmeyer, tabung dialysis D9527-100ft, vortex (H-VM-400), botol gelap tertutup, penangas air, loyang, tabung reaksi, mikropipet, sentrifuse (Plc Series), spektrofotometer UV-Vis (Inesa).

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) nonfaktorial dengan empat kali ulangan. Penelitian ini dilakukan dengan enam

taraf perlakuan. Perlakuan yang digunakan adalah konsentrasi katekin yang ditambahkan pada pati jagung. Formulasi pati jagung dan katekin (b/b) disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Formulasi pati jagung dan katekin

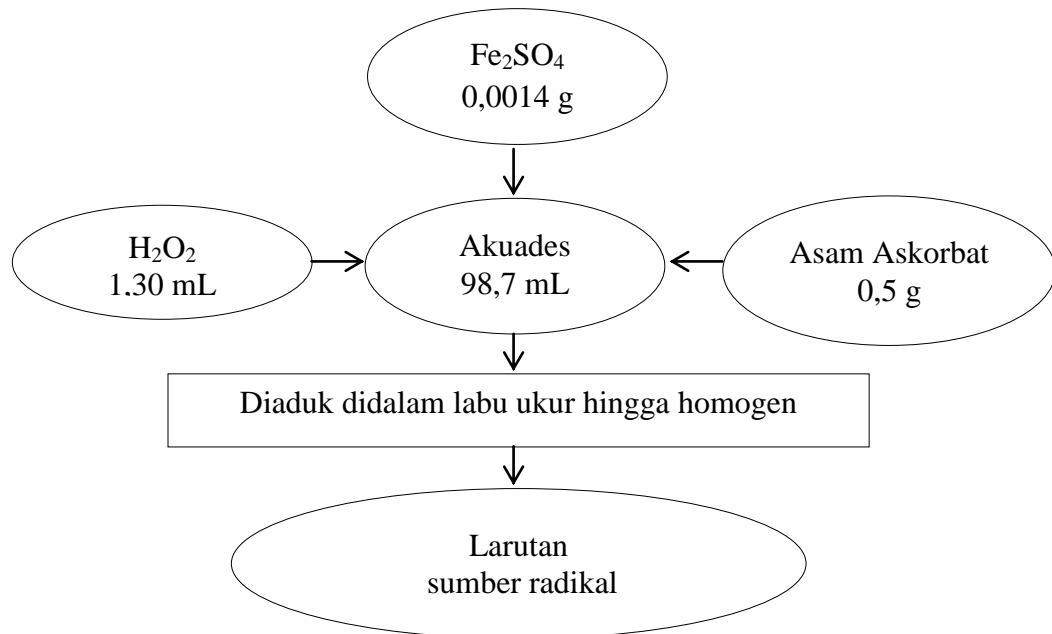
Formula	Konsentrasi Katekin (per berat pati)	Berat Pati Jagung (g)	Berat Katekin (g)	Metode FRG
C1	0%	25	0	Ya
C2	0,5%	25	0,125	Ya
C3	1%	25	0,25	Ya
C4	1,5%	25	0,375	Ya
C5	2%	25	0,5	Ya
C6	-	-	-	Tidak

Data yang diperoleh selanjutnya diuji kehomogenan data dengan uji Barlett dan kemenambahan data diuji dengan uji Tuckey. Data dianalisis ragam untuk mendapatkan penduga ragam galat dan uji signifikan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan. Selanjutnya dilakukan uji lanjut dengan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf nyata 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Data yang diperoleh dianalisis statistik menggunakan aplikasi SPSS tipe 26.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Pembuatan Larutan Sumber Radikal

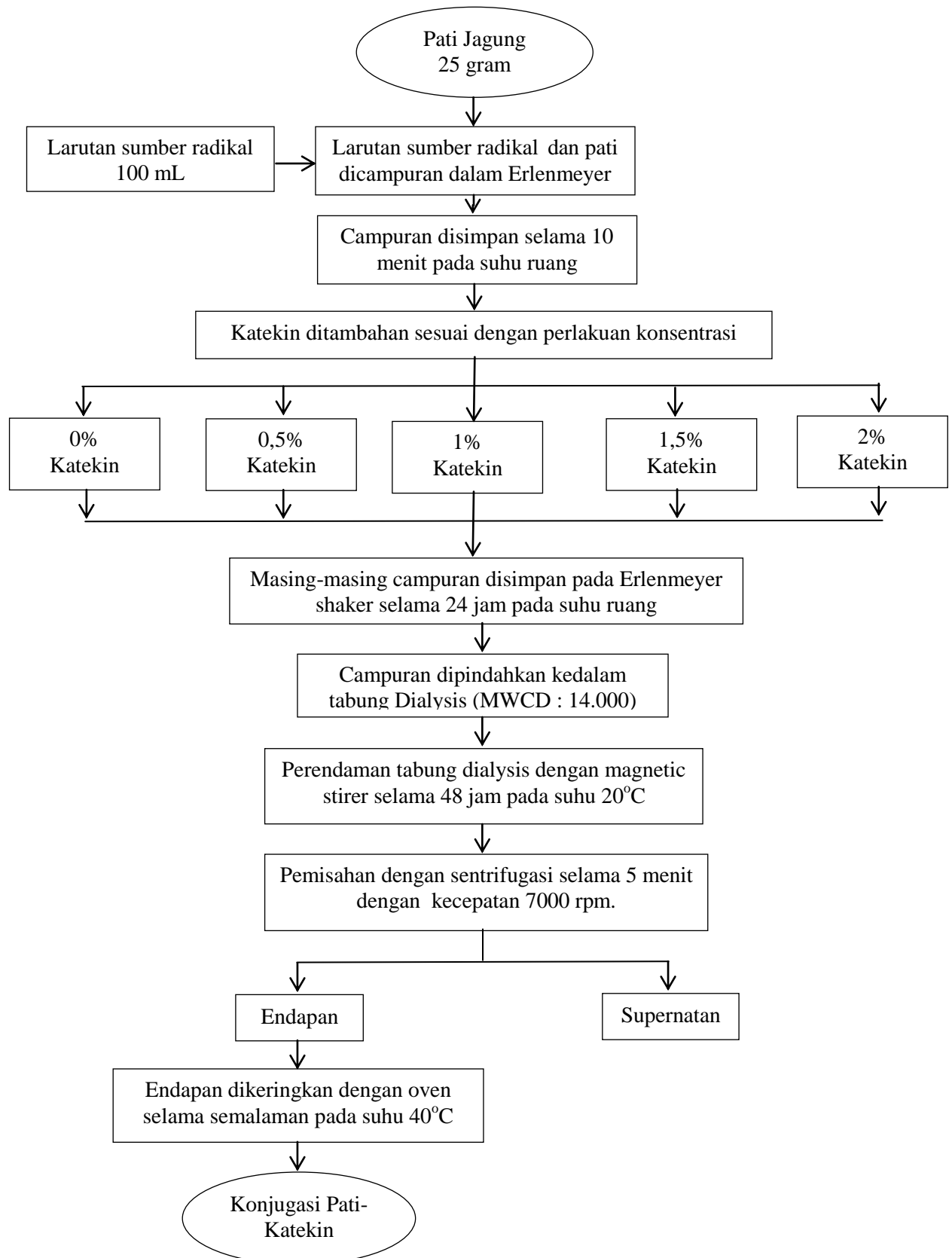
Persiapan awal dengan proses pembuatan larutan H_2O_2 yang mengandung asam askorbat dengan mengikuti metode yang digunakan Cirillo *et al.* (2012) dan Liu *et al.* (2017) yang dimodifikasi. Larutan H_2O_2 *food grade* 30% (Merck 107209), 1,30 mL, 98,7 mL aquadest, 0,0014 gram Fe_2SO_4 dan 0,5 gram asam askorbat (Sigma-Aldrich) dimasukkan kedalam beaker glass, kemudian diaduk hingga larut. Diagram alir proses pembuatan larutan H_2O_2 yang mengandung asam askorbat dapat dilihat pada Gambar 5:



Gambar 5. Proses pembuatan larutan sumber radikal berdasarkan Cirillo *et al.* (2012) dan Liu *et al.* (2017) dengan sedikit modifikasi.

3.4.2. Persiapan Sintesis Konjugat Pati-Katekin

Persiapan sintesis konjugat pati-katekin dilakukan berdasarkan metode yang digunakan Cirillo *et al.* (2012) dan Liu *et al.* (2017) dengan sedikit modifikasi. Pati jagung sebanyak 25 gram dilarutkan dalam beaker glass 500 mL, dengan ditambahkan larutan sumber radikal, kemudian didiamkan selama 10 menit. Katekin ditambahkan ke dalam campuran dengan perbandingan berat pati dan katekin (b/b) masing-masing 0%; 0,5%; 1%; 1,5%; dan 2%. Campuran dimasukkan dalam erlenmeyer dan diletakkan pada erlenmeyer shaker pada suhu ruang selama 24 jam dengan kecepatan 200 rpm, kemudian dimasukkan ke dalam tabung dialysis (MWCD : 14.000) dan direndam didalam wadah yang berisi aquades di magnetic stirer pada suhu ruang selama 48 jam. Pergantian aquadest dilakukan setiap 24 jam. Larutan yang telah diperoleh selanjutnya disentrifugasi selama 5 menit dan endapan dikeringkan semalaman dengan pengering oven pada suhu 40°C untuk mendapatkan konjugat seperti bentuk tepung. Diagram alir proses pembuatan konjugat pati-katekin dengan metode *free radical grafting (FRG)* dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Persiapan sintesis konjugat pati-katekin menggunakan metode *free radical grafting* dengan sedikit modifikasi.(Cirillo *et al.* (2012) dan Liu *et al.* (2017)).

3.5. Pengamatan

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap total fenol, aktivitas antioksidan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil* (DPPH), aktivitas antioksidan metode *2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfona* (ABTS), dan aktivitas antioksidan metode *meat system*.

3.5.1. Pengujian Total Fenol

Pengujian total fenol yang dilakukan pada penelitian ini adalah dengan metode Ismail dkk. (2012). Tahapan yang dilakukan pada analisis total fenol diawali dengan menyiapkan konjugat pati-katekin (sampel) sebanyak 0,2 mL ditambah dengan 0,2 mL aquades dan 0,2 mL reagen Folin Ciocalteu, dan kemudian divortex selama 1 menit. Setelah itu, campuran ditambahkan dengan 4 mL larutan natrium karbonat (Na_2CO_3) 2% dan divortex kembali selama 60 detik lalu didiamkan dalam ruang gelap pada suhu kamar selama 30 menit. Selanjutnya, absorbansi dibaca pada panjang gelombang 760 nm dengan spektrofotometri UV-VIS

Hasilnya diplotkan terhadap kurva standar asam galat dengan menggunakan persamaan regresi linier. Hubungan antara konsentrasi asam galat dinyatakan sebagai sumbu x dan besarnya absorbansi hasil reaksi asam galat dengan pereaksi Folin-Ciocalteu dinyatakan sebagai sumbu y (Gambar 7, Lampiran). Pembuatan kurva standar fenol dibuat dengan cara menimbang 10 mg bubuk asam galat kemudian dilarutkan dalam 10 mL etanol. Selanjutnya, dibuat seri pengenceran 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, lalu dilakukan perlakuan seperti sampel. Hasil yang diperoleh diplotkan pada kurva standar, yaitu :

$$y = ax + c$$

Keterangan:

y = Absorbansi sampel

a = Gradien

x = Konsentrasi ekuivalen katekin

c = Intersef

Hasil total fenol didapatkan dari nilai konsentrasi sampel yang disubstitusikan lagi ke dalam rumus perhitungan kadar total fenol. Kadar total fenol disajikan dalam satuan ppm *Gallic Acid Equivalent* (ppm GAE).

3.5.2. Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Analisis aktivitas antioksidan dilakukan mengikuti metode yang dilakukan Ismail dkk. (2012) dan Shimamura *et al.* (2014), yang telah dimodifikasi dengan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil). Penentuan penangkal radikal bebas ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning atau kuning muda, setelah sebelumnya dilakukan inkubasi selama 30 menit dalam tempat tertutup. Analisis aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH diawali dengan persiapan sampel sebanyak 0,1 g yang ditambahkan 2 mL etanol 96%, divorteks hingga larut, kemudian sampel disentrifuse dan diambil bagian supernatan. Supernatan diambil sebanyak 0,1 mL ke dalam tabung reaksi yang telah ditutup dengan aluminium foil.

Kemudian ditambahkan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL secara cepat (0,2 mm DPPH dibuat dengan menimbang bubuk DPPH sebanyak 0,0078 g dan tambahkan etanol sampai volume 100 mL). Larutan blanko dibuat dengan larutan DPPH 0,2 mM dipipet sebanyak 1 mL kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan etanol 0,1 mL. Setelah itu, larutan dihomogenkan dengan cara divorteks selama 60 detik. Larutan diinkubasi dalam ruang gelap suhu ruang selama 30 menit, kemudian dimasukkan dalam kuvet untuk dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer.

Penurunan nilai serapan larutan DPPH setelah penambahan sampel merupakan tolak ukur kemampuan antioksidan pada sampel. Hasil pengukuran absorbansi larutan DPPH dihitung sebagai absorbansi blanko (A_b). Hasil absorbansi larutan sampel digunakan sebagai absorbansi sampel (A_s). Nilai absorbansi larutan DPPH dan larutan sampel dihitung sebagai persen aktivitas antioksidan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Aktivitas Penghambatan} = \frac{(A_b - A_s)}{A_b} \times 100\%$$

Keterangan :

A_b = Absorbansi blanko

A_s = Absorbansi sampel

3.5.3. Aktivitas Antioksidan dengan Metode ABTS

Analisis persentase aktivitas antioksidan dilakukan menurut Rajurkar and Hande. (2011), dengan menggunakan metode ABTS (*2,2-azinobis (3-etibenzotiazolin)-6-sulfonat acid*). Kation radikal bebas ABTS disiapkan dengan mereaksikan antara larutan ABTS 7 mM dengan larutan $K_2S_2O_8$ 2,45 mM dengan perbandingan 1:1. Kemudian larutan ABTS dan $K_2S_2O_8$ dicampurkan dan diinkubasi pada suhu ruang dan kondisi gelap selama 16 jam. Selanjutnya dilakukan pengenceran pada larutan induk menggunakan aquadest untuk memperoleh absorbansi $\pm 0,700$ pada panjang gelombang 734 nm.

Selanjutnya persiapan larutan sampel diambil sebanyak 0,1 g sampel ditambahkan 2 mL etanol, divorteks selama 1 menit, dan diambil supernatannya. Pengujian dilakukan dengan 100 μ l supernatan ditambahkan larutan ABTS sebanyak 2,9 mL secara cepat didalam wadah tertutup yang sebelumnya telah dilapisi oleh alumunium foil. Kemudian divorteks 60 detik, dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dan gelap. Pengukuran absorbansi pada spektrofotometer dilakukan setelah inkubasi.

Larutan blanko dibuat dengan 100 μ l pelarut (dalam uji ini digunakan etanol), kemudian ditambahkan ABTS 2,9 mL secara cepat, divorteks 60 detik. Kemudian diinkubasi selama 30 menit dan diukur absorbansinya. Pengukuran absorbansi dengan spektrotometer dilakukan pada panjang gelombang 734 nm setelah sampel selesai diinkubasi. Besarnya daya antioksidan dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Aktivitas Penghambatan} = \frac{(Ab - As)}{Ak} \times 100\%$$

Keterangan :

Ab = Absorbansi kontrol

As = Absorbansi sampel

3.5.4. Aktivitas Antioksidan dengan Metode *Meat System*

Uji ini dilakukan mengikuti uji yang sebelumnya telah dilakukan oleh Amany *et al.* (2012), dengan sedikit penyesuaian. Uji ini dilakukan dengan menyiapkan daging yang sudah dihaluskan sebanyak 5 g daging sapi, ditambah dengan 0,2 g sampel pati sesuai perlakuan. Setelah dicampurkan, sampel ditambah dengan 5 mL aquades diaduk hingga tercampur rata. Kemudian ditambah dengan 0,1 mL $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (5 mM) dan 0,1 mL H_2O_2 (100 mM) diaduk hingga tercampur rata, kemudian divorteks selama 1 menit. Setelah selesai sampel diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruang.

Selanjutnya sampel diambil sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifuse, kemudian ditambah dengan 4 mL NaCl (0,85%) setelah itu diaduk dan divorteks selama 60 detik. Selanjutnya ditambahkan TCA (*trichloroacetic acid*) 7,5% sebanyak 1 mL ke campuran sampel, divorteks selama 60 detik kemudian campuran disentrifugasi selama 5 menit. Setelah itu diambil supernatan sebanyak 3 mL

, kemudian ditambahkan TBA (*thiobarbituric acid*) 0,68% sebanyak 1 mL dan divorteks selama 60 detik. Sampel diinkubasi pada suhu 100°C selama 35 menit, kemudian dimasukkan ke dalam air dingin selama 10 menit. Larutan blanko dibuat dengan metode yang sama tanpa penambahan konjugat pati dan katekin. Selanjutnya diukur dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 532 nm. Hasil absorbansi yang diperoleh berupa mg malondialdehid/kg daging. Kemudian nilai serapan TBA-MDA dihitung sebagai persen aktivitas antioksidan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Aktivitas Penghambatan} = \frac{(Ab - As)}{Ak} \times 100\%$$

Keterangan :

Ab = Absorbansi blanko

As = Absorbansi sampel

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Konsentrasi katekin yang dikonjugasikan pada pati jagung menggunakan metode *Free Radical Grafting* (FRG) berpengaruh nyata terhadap total fenol dan aktivitas antioksidan.
2. Penambahan konsentrasi katekin sebanyak 2% pada pati jagung menghasilkan total fenol sebesar 0,2334 ppm GAE dan aktivitas antioksidan metode DPPH sebesar 58,70%; ABTS sebesar 71,73%, dan *meat system* sebesar 55,62%.

5.2. Saran

Perlu dilakukan uji lanjut penelitian konjugasi pati jagung dan senyawa fenol dengan metode *Free Radical Grafting* (FRG) secara *in vivo* untuk melihat aktivitas antioksidan terhadap hewan model.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmadi, S.M., Farhoosh, R., Sharif, A., and Rezaie, M. 2020. Structure-Antioxidant Activity Relationships of Leteolin and Catechin. *Journal of Food Science*. 85(2): 298-305.
- Amany, M.M.B., Shaker, M.A. and Abeer, A.K. 2021. Antioxidant Activities of date pits in a Model Meat System. *International Food Research Journal*. Vol 19 (1) ; 223-227
- Arts, M.J.T.J., Haenen, G.R.M.M., Voss, H., and Bast, A. 2004. Antioxidant Capacity of Reaction Products Limits the Applicability of the Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) Assay. *Journal of Food and Chemical Toxicology*. 42(1): 45-49.
- Arunachalam, M., Raj, M.M., Nohan, N., and Mahadevan, A. 2003. Biodegradation of Catechin. *Proc. Indian National Science Academy*. 69(4): 353-370.
- Bhattacharya, A., and Misra, B.N. 2004. Grafting: A Versatile Means To Modify polymers Techniques, Factors, and Applications. *Progress in Polymer Science*. 29:767-814.
- Camelo-Mendez, G.A., Agama-Acevedo, E., Tovar, J., and Bello-Perez, L.A. 2017. Functional Study of raw and Cooked Blue Maize Flour: Starch Digestibility, Total Phenolic Content and Antioxidant Activity. *Journal of Cereal Science*. 76: 179-185.
- Chacko, S.M., Thambi, P.T., Kuttan, R., and Nishigaki, I. 2010. *Beneficial Effect of Green Tea: A Literature Review*. Nagoya. 5:13.

- Cho, Y.S., Kim, S.K., Ahn, C.B., and Je, J.Y. 2011. *Inhibition of Acetylcholinesterase by Gallic Acid-Grafted-Chitosans*. *Carbohydrate Polymer*. 84:690.
- Cirillo, G., Puoci, F., Iemma, F., Curcio, M., Parisi, O.I., Spizzirri, U.G., Altimari, I., and Picci, N. 2012. Starch-Quercetin Conjugate By Radical Grafting: Synthesis and Biological Characterization. *Pharmaceutical Development and Technology*. 17:466-76.
- Coimbra, S., Castro, E., Rocha-Pereira P., Robelo, I., Rocha, S., and Santos-Silvia, A. 2006. The Effect of Green Tea in Oxidative Stress. *Clin Nutrition*. 25: 790-796.
- Curcio, M., Puoci, F., Iemma, F., Parisi, O.I., Cirillo, G., Spizzirri, U.G., and Picci, N. 2009. Covalent Insertion of Antioxidant Molecules on Chitosan by a Free Radical Grafting Procedure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57:5933-8.
- Fajriah, S.A., Darmawan, A., Sundowo., dan Artanti. 2007. Isolasi Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Etl asetat Daun Benalu (*Dendrophthoe pentandra* L.) yang Tumbuh pada Inang Lobi-Lobi. *Jurnal Kimia Indonesia*. 2: 17-20.
- Firmansyah, S.I.U., dan Aqil, M. 2013. Keragaman Mutu Pati Beberapa Varietas Jagung. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. 32(1): 50-56.
- Firiani, I.L., Etsa, A.M., dan Choirun, N. 2015. Hubungan Asupan Vitamin C, Vitamin E dan Betakaroten dengan Kadar Gula Darah Puasa Pada Wanita Usia 35-50 Tahun. *Journal of Nutrition College*. 7(2): 85.
- Foster-Powell, K., Holt, S.H.A., and Brand-Miller, J.C. 2002. Internasional Table of Glikemic Index and Glicemic Load Values. *Am J Clin Nut* . 76: 5-56.
- Grzesik, M., Naparlo, K., Bartosz, G., and Bartosz, I.S. 2018. Antioxidant Properties of Catechins: Comparison with Other Antioxidant. *Journal of Food Chemistry*. 241: 480-492.
- Hafshah., dan Simanjuntak, K. 2020. Efektivitas Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Pada Tikus Wistar

- (*Rattus Nervegicus*) yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Sehat Mandiri*. 15(1):86-97.
- Halliwell, B., and Gutteridge, J.M.C. 2007. *Celluler Response to Oxidative Stress: Adaptation, Damage Repair. Senescence and Death*. In *Free Radical in Biology and Medicine*. 4th ed. London. 187-267.
- Han, J.A. and Lim, S.T. 2004. Structural Changes in Corn Starches During Alkaline Dissolution by Vortexing. *Carbohydrate Polymers*. 55: 193-199.
- Hasanah., Uswatun, S., Hamdani, S., dan Firmansyah, A. 2012. Perbandingan Kadar Katekin dari Beberapa Jenis Kualitas Teh Hitam (*Camellia sinensis* L.) di Pusat Penelitian Teh dan Kina (PPTK) Gambung. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi Indonesia*. 1(1): 7-12.
- Hayworth, D. 2014. *Chemistry of Crosslinking*. .
<http://www.piercenet.com/method/chemistry-crosslinking>. Diakses pada tanggal 04 Desember 2019.
- He, J., Xu, L., Yang, L., and Wang, X. 2018. Epigallocatechin gallate in the Most Effective catechin Against Antioxidant Stress Via Hydrogen peroxide and Radical Scavenging Activity. *Journal of Experimental and Clinical Research*. 24: 8198-8206.
- Hee, Y. N. 2005. *Effect of Ozonation and Addition of Amino Acids on Properties of Rice Starches*. A Disseftation Submitted to the Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical Collage.
- Herawati, H. 2011. Potensi Pengembangan Produk Pai Tahan Cerna Sebagai Pangan Fungsional. *Jurnal Litbang Pertanian*. 30(1):31-39.
- Hermanson, T.G. 1996. *Bioconjugation Techniques*. Academic Press Inc. New York. 3-4:169-170.
- Ho, Y.M., Nizam, W.A., and Rosli, W. 2016. Antioxidative Activities and Polyphenolic Content of Different Varieties of Malaysian Young Corn Ear and Cornsilk. *Sains Malaysiana*. 45(2): 195-200.

- Huang, D., Du, B., and Prior, R.L. 2005. The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 53:1841-1856.
- Ismail, J., Runtuwene, M.R.J. dan Fatimah, F. 2012. Penentuan Total Fenolik dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Biji dan Kulit Buah Pinang Yaki (*Areca vestiara Giseke*). *Jurnal Ilmiah Sains*. 12(2):84-88.
- Janeiro, P., and Brett, A.M.O. 2004. Catechin Electrochemical Oxidation Mechanisms. *Analytica Chimica Acta*. 518(1-2):109-115.
- Jardine, D., Aniolovich, M.S., Prenzler., and Robards, K. 2002. Liquid Chromatography-Mass Spectrometri(LC-MS) Investigation of the Thiobarbituric Acid Substances (TBARS) Reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 1720-1724
- Julfitriyani, Runtuwene, R.M., dan Wewengkang, D. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Foki Sabarati (*Solanum torvum*). 5(3).
- Karadag, A., Ozcelik, B., and Saner, S. 2009. Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Journal Food Analytical Methods*. 2:41-50.
- Kesuma, M.S dan Rina, Y. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Andalas University-Press. Padang.
- Kumalaningsih, S. 2007. *Antioksidan Alami*. Trubus Agisarana. Surabaya.
- Lima, M.S., Silani, I.S.V., Toaldo, I.M., Correa, L.C., Biasoto, C.T., Pereira, G.E., Bordignon-Luz, M.T., and Ninow, J.L. 2014. Phenolic Compounds, Organic Acids and Antioxidant Activity of Grape Juices Produced from new Brazilian Varieties Plantas in the Northeast region of Brazil. *Journal of Food Chemistry*. 161: 94-103.
- Liu, F., Ma, C., Gao, Y., and McClement, D.J. 2016. Food-Grade Covalent Complexes and Their Application as Nutraceutical Delivery Systems: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 16(1):76-95.

- Lopez, A.C., and Denicola, A. 2013. Evaluating the Antioxidant Capacity of Natural Product: A Review on Chemical and Cell-based Assays. *Anal Chim Acta*. 763:1-10.
- Lucida, H., Bakhtiar., dan Wina A.P. 2007. Formulasi Sediaan Antiseptik Mulut dari Katekin Gambir. *Jurnal Sains Teknologi Farmasi*. 12(1).
- Molyneux, P. 2004. *The Use of the Stable Free Radical Diphenyl Picrylhydrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*.
- Mujiono, M., dan Sholehah, D.N. 2020. Optimasi Ekstraksi Pati jagung Madura-3 Berdasarkan Lama Perendaman dan Konsentrasi NaOH. *Jurnal Rekayasa*. 13(2): 118-124.
- Mun, G.A., Nurkeeva, Z.S., Dergunov, S.A., Nam, I.K., Maimakov, T.P., Shaikhutdinov, E.M., Lee, S.C., and Park, K. 2008. *Studies of Graft Copolymerization of 2-hydroxyethyl acrylate onto Chitosan*. *Reactive and Functional Polymer*. 68:389-395.
- Muzolf-Panek, M., Gliszczynaska-Sawigo, A., Szymusiak, H., and Tyrakowska, B. 2012. The Influence of Stereochemistry on the Antioxidant Properties of Catechin. *Eur Food Res Technol*. 235:1001-1009.
- Nike, E. 2012. *Do Antioxidants Impair Signaling by Reactive Oxygen Species and Lipid oxidative Product*. 586(21): 3767-3770.
- Pereira, O.R., Peres, A.M., Silva, A.M.S., Domingues, M.R.M., and Cardoso, S.M. 2013. Simultaneous Characterization and Qualification of Phenolic Compounds in *Thymus x citriodorus* using a Validated HPLC-UV and ESI-MS Combined Method. *Journal of Food Research International*. 54: 1773-1780.
- Prakash, A. 2001. Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories: Analytical Progress*. 19(2): 1-4.
- Pratiwi, D., S. Wahdaningsih, dan Iskandar. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Daun Bawang Merah (*Eleutherine Americana Merr.*) Using DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) Method. *Journal Traditional Medicine*. 18(1): 9-10.

- Queiroz, F.M., Sabry, A.D., Sasaki, L.G., Rocha, O.A.H., and Costa, S.L. 2019. Gallic-Acid-Dextran Conjugated: Green Synthesis of a Novel Antioxidant Molecule. *Antioxidant*. 8(10): 478.
- Rajurkar, N.S. and Hande S.M. 2011. Estimation of Phytochemical Content and Antioxidant Activity of Some Selected Traditional Indian Medicinal Plants. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 73(2) : 146-151.
- Ramatina, Amalia, L., dan Ekayanti, L. 2014. Pengaruh Suplemen Antioksidan Terhadap Kadar Malondialdehid Plasma Mahasiswa Institut Pertanian Bogor. *Jurnal Gizi dan Pangan*. 9(1): 35-42.
- Rao, C.V., and Vijayakumar, M. 2007. Protective Effect of Catechin Against Gastric Mucosal Injury Induced by Ischaemia-Reperfusion in rats. *Journal Pharm Pharmacol*. 59(8): 1103-1107.
- Saefudin, Marusin, S., dan Chairul. 2012. Aktivitas Antioksidan pada Enam Jenis Tumbuhan Sterculiaceae. 31(2): 103-109.
- Sajilata, M., Rekha, S., Singhai, and Kulkarni, P. 2006. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. *Resistant Starch Review*. 5:1-17.
- Sembiring, E. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi dari Biji Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Kimia*. 9(1): 1-24.
- Setyaningsih, S., Katrin, R., dan Evy, D. 2017. Efek Produk Galohgor Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Penurunan Stress Oksidatif pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2. *Jurnal MKMI*. 13(4).
- Shi, J., and Kakuda, Y. 2017. Bioavailability and Synergistic Effects of tea Catechins as Antioxidants in the Human Diet. *Herbs: Challenges in Chemistry and Biology, ACS Symposium Series*. 925: 254-264.
- Shimamura, T., Sumikura, Y., Yamazaki, T., Tada, A., Kashiwagi, T., Ishikawa, H., Matsui, T., Sugimoto, N., Akiyama, H., and Ukeda, H. 2014. *Application of the DPPH Assay for Evaluating the Antioxidant Capacity of*

Food Additives – Inter-laboratory Evaluation Study. Analytical Sciences. 30:717-721.

Sinaga, I.M.H. 2019. Efek Ekstrak daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) Terhadap Tingkat Stres Oksidatif dan Ekspresi Sirtuin 3 pada Hidrokampus Mencit Betina Model Penuaan yang Diinduksi D-Galaktosa. *Tesis: Program Studi Magister Ilmu Biomedik*. Universitas Sumatera Utara. Medan.

Singh, R.P., Murthy, C.K.N., and Jayaprakasha, G.K. 2002. Studies on the Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel and Seede Extracts Using in Vitro Models. *Journal Agriculture and Food Chemistry*. 50: 81-86

Suarni., dan Yasin, M. 2011. Jagung Sebagai Sumber Bahan Pangan Fungsional. *IPTEK Tanaman Pangan*. 4(2):181-193.

Suwarni., dan Widowati, 2007. *Struktur, Komposisi, dan Njutrиси Jagung*. Pusat Penelitian Tanaman Pangan. Bogor. Halm. 410-426.

Talarowska, M. 2012. *Malondialdehyde plasma Concenstrasion Correlates with Declarative and Working memory in Patients with Recurrent Depressive Disorder*. 5539-5366.

Tang, S.Z., Kerry, J.P., Sheechan, D., and Buckley, D.J. 2002. Antioxidative Mechanisms of Tea Catechins in Chicken Meat System. *Food Chemistry*. 76: 45-51

Trilaksana, W. 2003. *Antioksidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja da Peran Terhadap Kesehatan*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Tursiman., Puji, A., dan Risa, N. 2012. Total Fenol Fraksi Etil Asetat dari Buah Asam Kandis (*Garcinia dioica Blume*) . *Jurnla Untan*. 1(1):45-48.

Velayutham, P., Babu, A., and Liu, D. 2008. Green Tea Catechins and Cardiovascular health: An Update. *Curr Med Chem*. 15(18): 1840-1850.

- Vuong, Q.V., Golding, J.B., Nguyen, M., and Roach, P.D. 2010. Extraction and Isolation of Catechins from Tea. *Journal of Separation Science*. 33(21):3415-3428.
- Wahdaningsih, S., Setyowati, E.P., dan Wahyuono, S. 2011. Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dari Batang Pakis (*Apsophila glauca* j.sm). *Majalah Obat Tradisional*. 16(3):156-160.
- Wani, I.A., Sogi, D.S., Wani, A.A., Gil, B.S., and Shivhare, U.S. 2010. Physicochemical Properties of Starches From Indian Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris*) Cultivars. *Int Journal Food Science Technology*. 45:2176-2185.
- Widowati, W. 2008. Potensi Antioksidan Sebagai Antidiabetes. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 7(2):1-11.
- Winarsi, H. 2007. *Aktivitas Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius. Yogyakarta.
- Wu, J.W., Hsieh, C.L., Wang, H.Y., and Chen, H.Y. 2009. Inhibitory Effects of Guava (*Psidium guajava* L.) Leaf Extracts and Its Active Compounds on the Glycation Process of Protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 113: 78-84.
- Yeni, G., Syamsu, K., Mardiyati, E., dan Muchtar, h. 2017. Penentuan Teknologi Proses Pembuatan Gambir Murni dan Katekin Terstandar dari Gambir Asalan. *Jurnal Litbang Industri*. 7(1): 1-10.
- Yuslianti, E.R. 2012. *Pengantar Stress Oksidatif*. Fakultas Kedokteran Unjani. Bandung. Hal: 1-94.
- Zanwar, A.A., Badole, S.L., and Shende, P.S. 2014. Antioxidant Role of Catechin in Health and Disease. *Journal of Poliphenols in human Health and Disease*. 267-271.