PENGARUH MODIFIKASI PATI JAGUNG DENGAN METODE *FREE RADICAL GRAFTING* (FRG) MENGGUNAKAN ASAM GALAT TERHADAP SIFAT ANTIOKSIDAN PATI JAGUNG

(Skripsi)

Oleh

Thias Wulandari
NPM 1714051016

FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022

ABSTRACT

Effect of Corn Starch Modification by Free Radical Grafting (FRG) Method Using Gallic Acid on Antioxidant Properties of Corn Starch

By

THIAS WULANDARI

People with DM are at risk of oxidative stress that can damage cells in the body. Gallic acid as one of the antioxidant source compounds that can be conjugated to starch by free radical grafting (FRG) method. This study aims to determine the effect of gallic acid concentration and the best formulation of gallic acid and corn starch using free radical grafting that produces starch with high antioxidant activity. This study consisted of the conjugate process of corn starch and gallic acid with free radical grafting and then total phenol and antioxidant activity tests. The research was arranged in a non-factorial Randomized Complete Block Design (RCBD). The study used 5 treatments with the addition of gallic acid concentrations P1 (0%); P2 (0.5%); P3 (1%); P4 (1.5%), P5 (2%) and 4 replicates. The grafting results were analyzed for total phenolics, DPPH and meat system (TBARS). The data obtained were tested for data homogeneity, analyzed for variance, and then conducted further tests of the Least Significant Difference (LSD) at a significant level of 5%. The results showed that starch-gallic acid conjugate had higher antioxidant activity than regular starch. The best treatment was P5 (2% starch-gallic acid conjugate weight of starch) with a total phenol value of 62.97 ppm GAE, antioxidant activity of DPPH method of 31.52% and meat system of 74.87%.

Keywords: free radical grafting, corn starch, gallic acid, DPPH, meat system (TBARS)

ABSTRAK

PENGARUH MODIFIKASI PATI JAGUNG DENGAN METODE *FREE RADICAL GRAFTING* (FRG) MENGGUNAKAN ASAM GALAT TERHADAP SIFAT ANTIOKSIDAN PATI JAGUNG

Oleh

THIAS WULANDARI

Penderita DM rentan mengalami keadaan stres oksidatif yang dapat merusak sel pada tubuh. Asam galat sebagai salah satu senyawa sumber antioksidan yang dapat dikonjugasikan pada pati dengan metode *free radical grafting* (FRG). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi asam galat serta formulasi asam galat dan pati jagung terbaik menggunakan *free radical grafting* yang menghasilkan pati dengan aktivitas antioksidan tinggi. Penelitian ini terdiri dari, tahapan proses konjugat pati jagung dan asam galat dengan *free radical grafting* kemudian dilakukan uji aktivitas total fenol dan antioksidan. Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) non faktorial. Penelitian menggunakan 5 perlakuan dengan penambahan asam galat konsentrasi P1 (0%); P2 (0,5%); P3 (1%); P4 (1,5%), P5 (2%) dan 4 ulangan. Hasil *grafting* dianalisis total fenol, DPPH dan *meat system* (TBARS). Data yang diperoleh diuji kehomogenan data, dianalisis ragam, kemudian dilakukan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konjugat pati-asam galat memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibanding pati biasa. Perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan P5 (konjugat pati-asam galat 2% pada berat pati) dengan nilai total fenol 62,97 ppm GAE, aktivitas antioksidan metode DPPH 31,52% dan *meat system* 74,87%.

Kata kunci : *free radical grafting*, pati jagung, asam galat, DPPH, *meat system* (TBARS)

PENGARUH MODIFIKASI PATI JAGUNG DENGAN METODE *FREE RADICAL GRAFTING* (FRG) MENGGUNAKAN ASAM GALAT TERHADAP SIFAT ANTIOKSIDAN PATI JAGUNG

Oleh

Thias Wulandari

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 MODIFIKASI PATI JAGUNG DENGAN METODE *FREE RADICAL GRAFTING* (FRG) MENGGUNAKAN ASAM GALAT TERHADAP SIFAT ANTIOKSIDAN PATI JAGUNG**
Nama	: Thias Wulandari
Nomor Pokok Mahasiswa	: 1714051016
Program Studi	: Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas	: Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Dr. Ir. Samsu Udayana Nurdin, M.Si.	**Dr. Ir. Subeki, M.Si., M.Sc.**
NIP. 19670615 199403 1 003	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 : **Novita Herdiana, S.Pi., M.Si.**

2. Dekan Fakultas Pertanian

Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP. 19611020 198603 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **22 Desember 2022**

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Thias Wulandari

NPM : 1714051016

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

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

Bandar Lampung, 10 Februari 2023

Pembuat pernyataan

Thias Wulandari

NPM 1714051016

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Karta, 22 November 1998, sebagai anak pertama dari pasangan Bapak Herman dan Ibu Rolina Yusma. Penulis memiliki seorang adik laki-laki Taufik Hidayat. Penulis menyelesaikan pendidikan taman kanak-kanak di TK Swasta Citra Insani pada tahun 2005. Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SD Swasta Citra Insani pada tahun 2011, kemudian melanjutkan pendidikan menengah pertama di SMP Negeri 2 Tulang Bawang Udik dan lulus pada tahun 2014. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 1 Tulang Bawang Udik dan lulus pada tahun 2017.

Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2017 melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Pada bulan Januari sampai dengan Februari 2020, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Tematik di Pekon Marga Mulya, Kecamatan Kelumbayan Barat, Kabupaten Tanggamus. Pada bulan Juli sampai dengan Agustus 2020, penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di UMKM Robbani Snack Kecamatan Gadingrejo, dan menyelesaikan laporan PU yang berjudul "Mempelajari *Personal Hygiene* Pekerja Serta Penerapan Sanitasi Dalam Proses Produksi Di UMKM-Robbani Snack"

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif di Unit Kegiatan Mahasiswa Sains dan Teknologi Universitas Lampung (Saintek Unila). Penulis aktif dalam kegiatan kemahasiswaan yaitu sebagai anggota Manajemen Sumber Daya Sains dan Teknologi Universitas Lampung (Saintek Unila) periode 2018/2019 dan menjadi Sekretaris Departemen Manajemen Sumber Daya Sains dan Teknologi Universitas Lampung (Saintek Unila) periode 2019/2020.

SANWACANA

Alhamdulillaahirabbil'aalamiin. Puji syukur penulis ucapkan kehadirat Allah SWT, atas rahmat, hidayah, dan inayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung;
2. Bapak Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang memfasilitasi penulis dalam menyelesaikan skripsi;
3. Kementrian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi sebagai penyelenggara Program Bidikmisi yang telah memberikan biaya pendidikan kepada penulis selama 4 tahun;
4. Bapak Dr. Ir. Samsu Udayana Nurdin, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik sekaligus sebagai Dosen Pembimbing Pertama, yang bersedia membimbing. Terima kasih atas kesabaran, motivasi, nasihat, kesempatan serta bantuan dan fasilitas hingga penyusunan skripsi ini selesai;
5. Bapak Dr. Ir. Subeki, M.Si., M.Sc., selaku Dosen Pembimbing kedua, yang telah memberikan banyak arahan, masukan, serta dukungan dalam menyelesaikan skripsi penulis;
6. Ibu Novita Herdiana, S.Pi., M.Si., selaku pembahas yang telah memberikan semangat, nasihat, kritik dan saran guna terselesaikannya skripsi ini;
7. Seluruh Bapak dan Ibu dosen pengajar, staff dan karyawan di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, yang telah mengajari, membimbing, dan juga membantu penulis dalam administrasi akademik;

8. Keluargaku, Bapak Herman, Ibu Rolina Yusma, dan Adikku Taufik Hidayat yang telah memberikan dukungan, motivasi, materi dan yang selalu menyertai penulis dalam do'anya selama ini;
9. Sahabatku Tantiana Dwi A.P., Titania Dwi A.P., Lani Yuniarti, Aulia Githa, Dessy Fatmawati, Nining Yuliyanti, Bella Olivia, Rahmatina Fajaria, Edola Ratu, Rayhan Muharam, dan Listiani Nuri yang selalu ada dalam kehidupan kampus baik suka maupun duka, serta tempat berkeluh kesah.
10. Sahabatku Siti Rodiah, Hesti Oktavia, Rizki Ramdani, Ella Sari, Merda Sari, Candra Bintang, Ajis Restu, Riki Agus, Arnando Nyogatama, Doni Andika P, Rian Siantori dan Legowo Dea yang selalu memberikan dukungan, waktu, canda tawa serta nasihat hingga akhir.
11. Warga Kompleks DPR Residen Hijau Nita Suliyani, Anggun Ivana, Tri Susanti, Sumiyati, dan Nilla Anggi serta Yusma Squad Novia Daralika, Visca Aprilia, Heni Ibuwan, Suci Indah, Reny Wahyuni dan Merly Jayanti telah menjadi tempat bercerita, bermain, memberikan dukungan serta do'a.
12. Keluarga besar THP 2017, serta semua orang-orang baik yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, terima kasih atas pengalaman, dukungan, serta kebersamaannya selama ini.

Penulis berharap semoga Allah membalas seluruh kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Bandar Lampung, 10 Februari 2023

Thias Wulandari

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI xi

DAFTAR TABEL xiii

DAFTAR GAMBAR xiv

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang dan Masalah 1
1.2. Tujuan Penelitian 3
1.3. Kerangka Pemikiran 4
1.4. Hipotesis 5

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Pati Jagung 6
2.2 Asam Galat 8
2.3 Modifikasi Pati 9
2.4 *Free Radical Grafting* 11
2.5 Diabetes Melitus 13
2.6 Antioksidan 14
2.7 DPPH 16
2.8 Malondialdehid (MDA) 18
2.9 *Meat System* (TBARS) 20

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian 23
3.2. Alat dan Bahan 23

3.3. Metode Penelitian 24
3.4. Tahapan Penelitian 24
3.4.1 Pembuatan Senyawa Sumber Radikal 24
3.4.2 Persiapan Sintesis Konjugat Pati-Asam Galat 25
3.5 Pengamatan 27
3.5.1 Aktivitas Total Fenol 27
3.5.2 Aktivitas Penghambatan Metode DPPH 28
3.5.2 Aktivitas Penghambatan Metode TBARS *(Meat System)* ... 29

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Total Fenol 31
4.2 Aktivitas Antioksidan 34
4.2.1 Metode DPPH 34
4.2.1 Metode *Meat System* 37

V. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan 41
5.2 Saran 41

DAFTAR PUSTAKA 42

LAMPIRAN 50

DAFTAR TABEL

Tabel Halaman

1. Karakteristik granula pati berdasarkan sumber patinya 7
2. Formulasi pati jagung dan asam galat 24
3. Hasil uji lanjut BNT 5% total fenol pati jagung yang dikonjugasikan dengan asam galat 31
4. Hasil uji lanjut BNT 5% aktivitas penghambatan (RSA) pati jagung yang dikonjugasikan dengan asam galat 35
5. Hasil uji lanjut BNT 5% aktivitas penghambatan metode *meat system* pati jagung yang dikonjugasikan dengan asam galat 38
6. Nilai absorbansi kurva asam galat (standar total fenol) dengan spektrofotometri 760 nm 51
7. Data nilai absorbansi total fenol pati jagung yang dikonjugasikan dengan asam galat 52
8. Data nilai total fenol pati jagung yang dikonjugasikan dengan asam galat 52
9. Uji homogenitas total fenol pati jagung yang dikonjugasikan dengan asam galat 53
10. Analisis ragam total fenol pati jagung yang dikonjugasikan dengan asam galat 53
11. Hasil uji BNT 5% total fenol pati jagung yang dikonjugasikan dengan asam galat 54
12. Data nilai absorbansi penghambatan (RSA) pati jagung yang dikonjugasikan dengan asam galat 56
13. Data nilai persen penghambatan (RSA) pati jagung yang dikonjugasikan dengan asam galat 56
14. Uji homogenitas persen penghambatan (RSA) pati jagung yang dikonjugasikan dengan asam galat 57
15. Analisis ragam penghambatan (RSA) pati jagung yang dikonjugasikan dengan asam galat 58
16. Hasil uji BNT 5% penghambatan (RSA) pati jagung yang

dikonjugasikan dengan asam galat..... 58
17. Data nilai absorbansi penghambatan metode *meat system* pati jagung yang dikonjugasikan dengan asam galat..... 60
18. Data nilai absorbansi penghambatan metode *meat system* pati jagung yang dikonjugasikan dengan asam galat..... 60
19. Uji homogenitas aktivitas penghambatan metode *meat system* pati jagung yang dikonjugasikan dengan asam galat..... 61
20. Analisis ragam aktivitas penghambatan metode *meat system* pati jagung yang dikonjugasikan dengan asam galat..... 61
21. Hasil Uji BNT 5% aktivitas penghambatan metode *meat system* pati jagung yang dikonjugasikan dengan asam galat..... 62

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1.	Struktur amilosa	6
2.	Struktur amilopektin	6
3.	Struktur kimia asam galat	9
4.	Skema proses konjugasi asam galat dan dextran	12
5.	Gambar mekanisme pemberian satu elektron oleh antioksidan kepada radikal bebas	15
6.	Reaksi antara DPPH dengan senyawa antioksidan	17
7.	Tahapan peroksidasi lemak	19
8.	Reaksi pembentukan komplek MDA-TBA	21
9.	Proses pembuatan senyawa sumber radikal	25
10.	Persiapan sintesis konjugat pati-asam galat menggunakan metode *free radical grafting*	26
11.	Grafik kurva standar asam galat	51
12.	Total fenol (ppm GAE) pati jagung yang di*grafting* dengan asam galat	55
13.	Hasil uji lanjut BNT 5% terhadap aktivitas penghambatan (RSA)	59
14.	Aktivitas penghambatan konjugat pati-asam galat metode *meat system*.....	63
15.	Proses *free radical grafting* pati-asam galat : (a) penambahan pati, (b) penambahan sumber senyawa radikal, (c) pendiaman selama 10 menit, (d) penambahan asam galat.....	64
16.	Proses *free radical grafting* pati-asam galat : (a) pengadukan dalam Erlenmeyer shaker, (b) pemindahan ke tabung *dyalisis*, (c) pendiaman selama 48 jam, (d) sentrifuge.....	65
17.	Proses *free radical grafting* pati-asam galat : (a) pengambilan endapan, (b) hasil endapan, (c) oven semalaman, (d) konjugat pati-asam galat.	66
18.	Analisis : (a) kadar total fenol, (b) aktivitas penghambatan DPPH, (c) aktivitas penghambatan *meat system*.....	67

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Dan Masalah

Diabetes melitus (DM) diketahui secara luas sebagai jenis penyakit kelainan metabolik dengan karakteristik kadar gula tinggi atau biasa dikenal dengan hiperglikemia (American Diabetes Association, 2015). Diabetes melitus merupakan penyakit dengan gangguan sistem metabolisme karbohidrat disebabkan pankreas tidak dapat memproduksi atau tidak dapat menggunakan hormon insulin secara efektif (KemenKes RI, 2014). Indonesia menempati urutan ke-7 tertinggi di dunia dengan penyandang diabetes mencapai 10 juta jiwa (IDF, 2019). Pola konsumsi buah dan sayuran tidak selalu dapat mencegah DM, beberapa buah dan sayuran dapat meningkatkan resiko DM. Hal ini dikarenakan adanya kandungan pati yang tinggi seperti pada kentang, buncis, jagung dan tomat (Veridiana dan Nurjana, 2019).

Menurut Putra dan Mahmudiono (2012), komposisi diet orang Indonesia yang tinggi akan konsumsi karbohidrat, dapat berpengaruh terhadap resiko terjadinya diabetes. Asupan makanan yang berlebihan, tidak seimbang dan tidak beragam dapat menjadi penyebab meningkatnya faktor resiko kejadian diabetes melitus (Rahman dkk, 2020). Sumber karbohidrat utama di Indonesia saat ini adalah padi (81 juta ton), jagung (28 juta ton), dan singkong (19 juta ton). Jagung diketahui mengandung kadar karbohidrat sebesar 64%. Keunggulan lainnya yakni memiliki nilai indeks glikemik sebesar 50 hingga 90. Angka ini tergolong lebih rendah jika dibanding dengan nilai indeks glikemik pada beras sebesar 120. Jagung memiliki serat pangan yang mampu mengikat kolesterol yang terdapat di usus (Suarni dan Widowati, 2007).

Konsumsi berlebihan dapat berpengaruh terhadap kadar gula darah yang dapat mempengaruhi resiko diabetes (Putra dan Mahmudiono, 2012). Pada penderita diabetes melitus dapat terjadi komplikasi diabetes yang berkaitan dengan stres oksidatif. Stres oksidatif dan kerusakan oksidatif pada jaringan dapat menyebabkan penyakit kronis seperti aterosklerosis, diabetes, rematik artritis (Widowati, 2008). Stres oksidatif merupakan kondisi adanya peningkatan produksi radikal bebas atau berkurangnya aktivitas pertahanan antioksidan atau keduanya (Prawita, 2019). Keadaan stres oksidatif, dimana tubuh tidak mampu menangkal radikal bebas akibat jumlah antioksidan endogen lebih rendah dibanding jumlah radikal bebas yang ada sehingga membutuhkan asupan antioksidan eksogen (antioksidan dari luar) (Zuraida dkk, 2017).

Stres oksidatif pada penderita diabetes akan mengakibatkan berbagai kerusakan oksidatif berupa komplikasi diabetes (Widowati, 2008). Antioksidan mampu menstabilkan radikal bebas dengan mendonorkan elektron pada radikal bebas, serta menghambat reaksi berantai pembentukan radikal bebas (Winarsi, 2007). Antioksidan eksogen dapat berasal dari bahan alami maupun sintetik, antioksidan alami seperti senyawa fenolik lebih dipilih dibandingkan dengan antioksidan sintetik. Antioksidan golongan fenol seperti katekin dan antioksidan sintetik dapat menghambat proses mailard. Jumlah antioksidan yang cukup dapat mengatasi stres oksidatif yang dapat membantu mengobati penyakit kardiovaskuler, inflamasi, penyakit komplikasi pada penderita diabetes dan kanker (He *et al*., 2018).

Menurut Zeng *et al.* (2014), antioksidan alami bisa menjadi salah satu alternatif pilihan karena lebih efektif dan aman, dibanding antioksidan sintetik. Hal ini disebabkan oleh sifat antioksidan sintetik yang memiliki efek samping hepatotoksik dan karsinogenesis. Sumber antioksidan alami banyak terdapat pada tumbuhan dan umumnya mengandung flavonoid dan fenolik yang tersebar di seluruh bagian tumbuhan. Senyawa fenolik yang terdapat pada tanaman herbal, seperti teh diantaranya terdapat katekin dan asam galat. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Farhoosh dan Nystrom (2018), asam galat terbukti berpotensi sebagai antioksidan terbaik bahkan pada saat pengolahan suhu tinggi. Senyawa

fenolik sebagai zat yang dipercaya dapat menyebabkan penurunan daya cerna pada pati.

Modifikasi pati dapat menjadi salah satu solusi guna meningkatkan sifat pati. Melakukan modifikasi pada pati diharapkan dapat meningkatkan pemanfaatan serta meningkatkan nilai fungsional pati secara luas. Modifikasi pati memerlukan metode yang sesuai dengan tujuan penggunaan pati tersebut, baik pada industri pangan atau non pangan. Pati dapat diberi perlakuan secara kimia, fisik maupun enzimatis. Metode modifikasi dapat dilakukan dengan asam, enzim, oksidasi, ikatan silang (Miyazaki *et al.,* 2006). Beberapa penelitian yang telah dilakukan berhasil meningkatkan nilai fungsional pada pati melalui metode *free radical grafting* (FRG).

Penelitian ini menggunakan metode FRG yang sebelumnya telah dilakukan oleh Cirillo *et al*. (2012). Penelitian yang dilakukan oleh Cirillo *et al*. (2012) mengkonjugasikan pati dengan quarcetin dan menghasilkan senyawa kovalen. Penelitian tersebut membuktikan konjugasi pati jagung dan quarcetin menghasilkan aktifitas antioksidan yang tinggi jika dibandingkan dengan pati tanpa perlakuan konjugasi quarcetin. Belum diketahui informasi mengenai konjugasi pati jagung dengan asam galat apakah memiliki pengaruh terhadap aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan uji apakah metode FRG pada pati jagung dan asam galat dapat mempengaruhi aktifitas antioksidan pada pati jagung yang dihasilkan.

1.2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi asam galat yang dikonjugasikan pada pati jagung menggunakan *free radical grafting* terhadap aktivitas antioksidan.
2. Mengetahui formulasi asam galat dan pati jagung terbaik menggunakan *free radical grafting* yang menghasilkan pati dengan aktivitas antioksidan tinggi.

1.3. Kerangka Pikiran

Keadaan stres oksidatif memerlukan antioksidan untuk meredam radikal bebas (Rakhmat dkk., 2018). Antioksidan dapat diperoleh baik secara alami maupun sintetik. Penelitian yang dilakukan Triandita dkk. (2016), dalam perbaikan status antioksidan penderita diabetes melitus dengan tahu kedelai hitam kaya serat telah terbukti mampu meningkatkan antioksidan plasma pada responden diabetes melitus. Antioksidan alami yang terkandung dalam tumbuhan dan beberapa bahan pangan lain yaitu senyawa polifenol, karotenoid, dan vitamin.

Suatu senyawa memiliki kemampuan sebagai antioksidan dipengaruhi banyak faktor seperti jumlah gugus fenol, posisi gugus –OH yang terdapat dalam senyawa serta ada keberadaan gugus fungsional lain (Borra *et al.*, 2013). Senyawa fenolik diketahui dapat menghasilkan aktifitas antioksidan yang berperan sebagai agen pereduksi serta antioksidan dapat berperan aktif sebagai pendonor atom hidrogen. Aktivitas antioksidan dari komponen fenol dan flavonoid dengan cara mereduksi radikal bebas (Zuraida dkk., 2017). Secara alami antioksidan terdapat pada beberapa jenis pangan termasuk teh hijau (Rakhmat dkk, 2018).

Marino *et al*. (2014), berpendapat asam galat mampu bereaksi dengan radikal bebas peroksi dan hidroperoksi yang terbentuk dari reaksi oksidasi. Liu *et al.* (2017), menyatakan bahwa senyawa fenolik jika dikonjugasikan dengan pati dapat menghasilkan senyawa terkonjugasi dengan sifat fungsional dan nilai gizi berbeda. Pada penelitian Junaidi dan Anwar (2018), asam galat yang termasuk kedalam golongan senyawa fenolik terbukti memiliki sifat sebagai antioksidan yang baik dan stabil. Proses konjugasi dengan asam galat bisa dilakukan dengan menggunakan metode *free radical grafting* (FRG) yang memiliki banyak kelebihan. Metode FRG dapat menjadi salah satu metode alternatif untuk mengkonjugasikan senyawa fenolik dan senyawa polisakarida (Curcio *et al.*, 2009).

Konjugasi kitosan dan asam galat mampu menghasilkan aktivitas antioksidan yang cukup signifikan, sehingga asam galat dapat dijadikan senyawa fenolik

potensial sebagai anti Diabetes Melitus (Hu *et al.*, 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Cirillo *et al.* (2012), menggunakan metode *free radical grafting* dengan mengkonjugasi pati dan *quercetin* dan menghasilkan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan cukup tinggi. Dari penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan senyawa konjugasi pati yang memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi dan mampu mengurangi resiko terjadinya komplikasi lanjut pada penderita diabetes melitus yang disebabkan oleh kondisi stres oksidatif.

1.4. Hipotesis

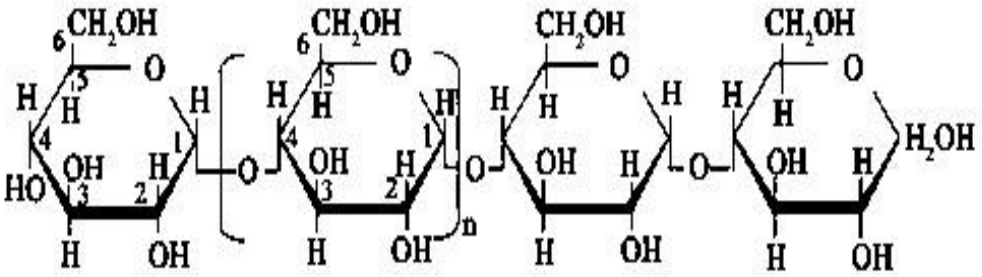
Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Konsentrasi asam galat yang dikonjugasikan pada pati jagung menggunakan *free radical grafting* berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan
2. Terdapat formulasi asam galat dan pati jagung terbaik yang menghasilkan pati dengan aktivitas antioksidan tinggi.

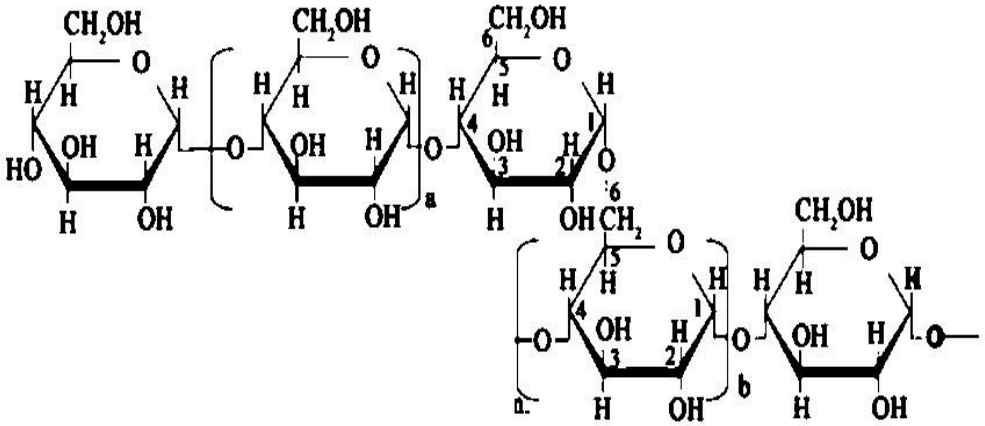
II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pati Jagung

Pati merupakan polisakarida yang merupakan hasil sintesis dari tanaman hijau melalui proses fotosintesis. Pati sebagai polisakarida yang terdapat dalam sel tumbuhan dan beberapa mikroorganisme dengan bentuk granula (butiran). Granula pati terdapat dua polisakarida yaitu amilosa dan amilopektin. Pati adalah karbohidrat utama yang tidak larut dalam air, bersifat tawar serta tidak berbau. Karakteristik struktur polimer pati seperti berat molekul, derajat percabangan, dan panjang rantai mempengaruhi sifat fisiknya (Han dan Lim, 2004). Struktur kimia pati, yaitu amilosa dan amilopektin dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Struktur amilosa (Tester *et al.*, 2004)



Gambar 2. Struktur amilopektin (Tester *et al.*, 2004)

Pati merupakan cadangan makanan utama yang terdapat pada tanaman. Pati memiliki sifat yang berbeda, tergantung pada jumlah rantai atom karbon penyusunnya, serta lurus atau bercabang. Pati dapat diperoleh dari biji-bijian, umbi-umbian, sayuran, maupun buah-buahan (Sandhu dan Singh, 2007). Granula pati dalam keadaan murni berwarna putih, mengkilat, tidak berbau dan tidak berasa. Granula pati bervariasi dalam bentuk dan ukuran bergantung sumber patinya. Karakteristik granula pada pati berdasarkan sumber patinya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik granula pati berdasarkan sumber patinya

Sumber	Diameter	
	Kisaran (um)	Rata-rata (um)
Jagung	21-96	15
Kentang	15-100	33
Ubi Jalar	15-55	25-50
Tapioka	6-36	20
Gandum	2-38	20-22
Beras	3-9	5

Bentuk butiran pati secara fisik berupa semikristalin yang terdiri dari unit kristal dan unit amorf (Banks dan Greenwood, 1975). Sumber alami pati dapat berasal dari jagung, labu, kentang. Jagung (*Zea mays)* sebagai salah satu serelia yang strategis memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi, serta sebagai salah satu sumber utama karbohidrat setelah beras. Pati tersusun atas rangkaian unit glukosa terdiri dari fraksi amilopektin dan amilosa. Pati jagung alami memiliki kadar amilosa yang rendah dibanding dengan kadar amilopektin.

Bobot molekul amilosa dan amilopektin berbeda, bergantung pada sumber botaninya. Menurut Banks dan Greenwood (1975) mengatakan bahwa pati jagung memiliki kandungan pati antara 95,37% – 97,98% dan amilosa 37,10% – 57,29%. Biji jagung mengandung pati 54,1% - 71,7% karbohidrat pada jagung adalah pati, komponen lainnya pentose, dekstrin, sukrosa, dan gula pereduksi (Fahn, 1992). Jagung diketahui mengandung kadar karbohidrat sebesar 64%. Jagung beserta produk olahannya sangat dianjurkan bagi penderita diabetes melitus dan kelainan jantung. Pada jagung terdapat serat pangan yang mampu mengikat kolesterol yang terdapat di usus (Suarni dan Widowati, 2007).

Keunggulan lainnya yakni memiliki nilai indeks glikemik sebesar 50-90. Angka glikemik ini tergolong lebih rendah jika dibanding dengan nilai indeks glikemik pada beras sebesar 120. Granula pati memiliki sifat tidak larut dalam air dingin, dapat menyerap air, mengembang kembali seperti semula dan jika dipanaskan akan mengalami gelatinisasi (Han *et al,*. 2004). Granula pati terdiri atas dua fraksi dengan sifat yang berbeda, fraksi terlarut merupakan amilosa dan fraksi tidak terlarut adalah amilopektin.

Sifat pati lainnya dalam bentuk alaminya memiliki kekurangan dalam ketahanan terhadap pengadukan dan suhu tinggi. Pati jagung memiliki keterbatasan yakni mudah mengalami retrogradasi dan sulit membentuk gel yang kaku jika pada konsentrasi rendah (Sandhu dan Singh, 2007). Menurut Han *et al.* (2004), struktur polimer pati dapat memiliki karakteristik yang berbeda. Perbedaan tersebut dapat disebabkan oleh adanya perbedaan pada berat molekul, panjang rantai serta derajat percabangan yang dapat mempengaruhi sifat fisik pati.

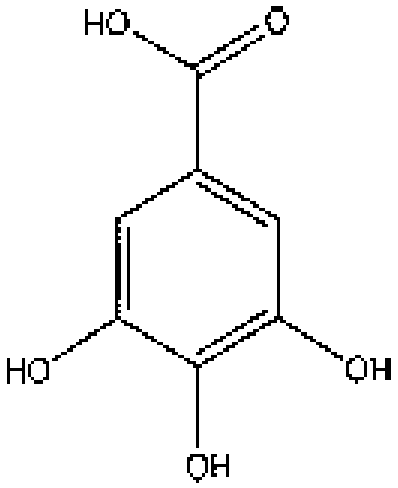
2.2 Asam Galat

Asam galat merupakan golongan senyawa fenol yang diketahui secara luas memiliki aktifitas antivirus, antijamur,dan antioksidan. Selain itu asam galat juga dipercaya mampu menjadi agen antikarsinogenik serta memiliki kemampuan sitotoksik melawan sel kanker tanpa merusak sel tubuh lainnya. Asam galat (*3,4,5-trihidroksi benzoic acid)* juga diketahui memiliki kemampuan sebagai agen antioksidan lebih kuat dibanding trolox, yaitu suatu analog dari vitamin E yang larut dalam air. Asam galat merupakan senyawa polifenol yang dapat ditemukan dalam olahan minuman seperti *red wine* dan teh hijau. Asam galat juga dapat berasal dari buah anggur, beri, daun jambu biji dan buah-buahan (Simão *et al.*, 2017).

Pada tumbuhan biasa ditemukan dalam bentuk asam bebas, ester, turunan katekin dan tanin terhidrolisis (Pal *et al*., 2018). Asam galat sering dijadikan sebagai acuan dalam banyak penelitian terkait dengan penetapan kandungan fenolik total sebagai ekivalen kandungan fenolik total bahan yang diuji. Asam galat juga sering

digunakan sebagai pengawet dalam suatu bahan makanan. Asam galat mampu menghambat antioksidan melalui mekanisme penangkapan radikal. Asam galat menyumbangkan satu elektron kepada elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas. Radikal bebas yang sebelumnya telah menerima elektron akan menjadi lebih stabil dan jumlah radikal bebas menjadi berkurang.

Asam galat memiliki sifat yang sangat baik dalam memerangkap radikal bebas. asam galat juga mudah ditemukan pada tanaman seperti *Garcinia densivenia*, *Bridelia micrantha* dan jenis tumbuhan lainnya. Asam galat ditemukan oleh peneliti sebagai antioksidan pada senyawa polifenol untuk menghambat penyakit seperti Alzheimer dan Parkinson's (Chou *et al.*, 2016). Asam galat sebagai senyawa antioksidan alami yang diekstrak dari tanaman yang secara luas dapat digunakan dalam makanan, obat-obatan, dan kosmetik. Menurut Lopez *et al.* (2003), gugus fungsi dalam struktur asam galat yang bertanggung jawab memberikan aktivitas antioksidan yakni 3 gugus fungsi hidroksil. Struktur kimia asam galat dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur kimia asam galat (Zhao *et al.*, 2011)

2.3 Modifikasi Pati

Pati termodifikasi merupakan pati yang telah diberi perlakuan guna mendapatkan sifat yang lebih baik, memperbaiki sifat sebelumnya serta merubah sifat dasar lainnya (James *et al.*, 1997). Modifikasi pati dapat dilakukan dengan penggunaan

panas, asam alkali, zat pengoksidasi atau bahan kimia lainnya. Modifikasi pati dapat menghasilkan gugus kimia baru atau perubahan bentuk, ukuran serta struktur molekul pada pati. Pati alami dapat dibuat menjadi pati termodifikasi dengan sifat yang dikehendaki sesuai dengan kebutuhan (Perera *et al.,* 2010). Pati termodifikasi dipilih dibanding pati alami sebab pati alami memiliki banyak kelemahan ketika akan digunakan baik pada industri pangan dan non pangan.

Kelemahan kelemahan sifat yang terdapat pada pati alami diantaranya tidak dapat diproses pada suhu tinggi, memiliki viskositas yang rendah, tidak tahan pada proses pengadukan. Pati alami juga memiliki kelemahan lain seperti tidak tahan pada kondisi asam, memiliki sifat gel pati yang mudah mengalami sineresis, serta memiliki kelarutan yang terbatas pada air (Kusnandar, 2010). Setiap proses modifikasi pati akan menghasilkan produk akhir dengan sifat yang khas bergantung pada proses modifikasi yang digunakan, serta sifat yang diinginkan. Pati termodifikasi sudah banyak digunakan dalam produk pembuatan salad cream, mayonaise, saus kental, jeli marmable, produk konfeksioneri, produk pangan dan non pangan lainnya (Haryani dkk., 2020).

Setiap metode modifikasi yang diterapkan akan menghasilkan pati dengan sifat yang berbeda, serta bergantung juga pada jenis pati yang digunakan (Koswara, 2009). Metode modifikasi pati sering menggunakan teknik modifikasi dengan asam, modifikasi dengan enzim, modifikasi dengan oksidasi, modifikasi ikatan silang (Putri dkk., 2014). Menurut Ega dan Lopulalan (2015) modifikasi pati dengan cara merubah struktur dan mempengaruhi ikatan hidrogen pada pati secara terkendali guna meningkatkan dan memperluas kegunaannya. Teknik modifikasi pati dapat dibagi menjadi modifikasi sifat rheologi, modifikasi stabilisasi dan modifikasi spesifik. Pada dasarnya modifikasi pati ditujukan untuk menganggu dan memotong ikatan antara molekul –(1-4) glukosa, kemudian merubah gugus hidroksil atau menambah gugus fungsional lainnya ke dalam molekul pati (Budiyati dan Ariyanti, 2014).

Modifikasi sifat rheologi diantaranya adalah dengan depolimerisasi (dekstrinisasi, konversi asam, konversi basa dan oksidasi) dan teknik ikatan silang. Modifikasi

dengan stabilisasi dilakukan dengan reaksi esterifikasi dan eterifikasi. Modifikasi spesifik didapat melalui proses kationisasi, karboksimetilasi, grafting dan oksidasi asam secara periodik (Wirakartakusumah *et al.*, 1989). Modifikasi pati untuk industri pangan dapat menghasilkan pati yang tahan cerna di dalam saluran pencernaan manusia. Pati resisten yang didapat dari modifikasi pati diketahui memiliki sifat fisik, kimia serta sifat fungsionalnya yang memiliki manfaat terhadap kesehatan yang baik dibanding dengan pati alami.

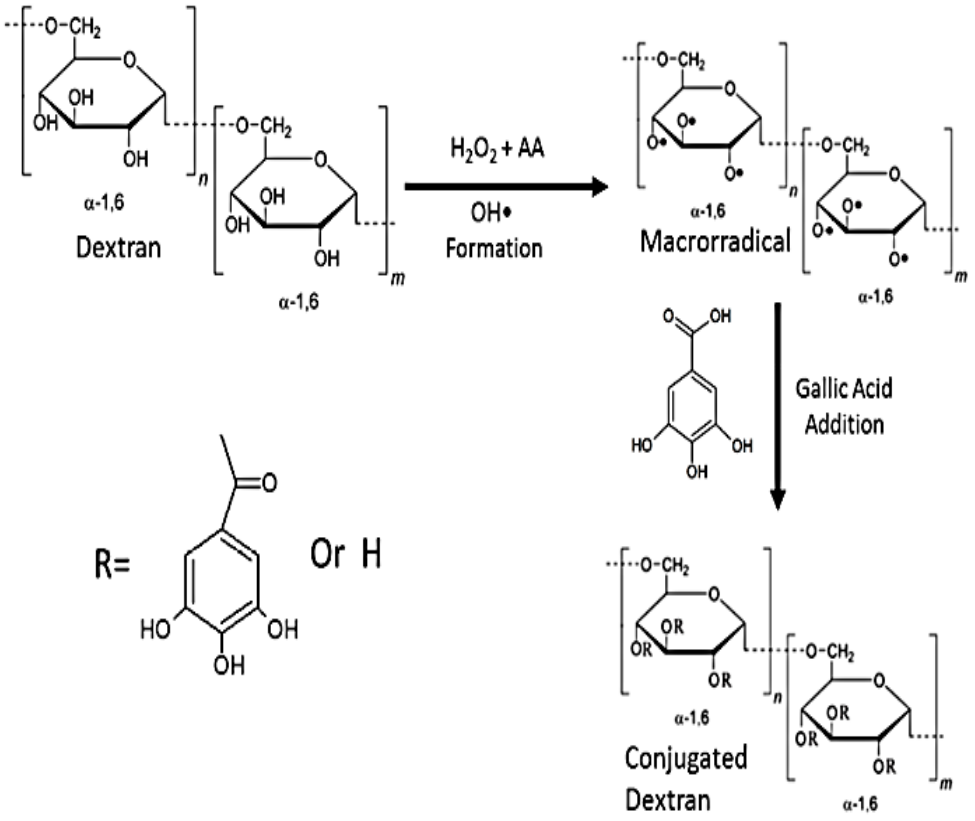
2.4 Free Radical Grafting

Metode *grafting* (Pencangkokan) dikenal secara luas sebagai teknik yang sering digunakan untuk memodifikasi bahan polimer dengan mendapatkan sifat-sifat tertentu polimer yang diinginkan. Metode *grafting* memiliki empat jenis teknik yaitu *grafting* dengan media kopling kaboimida, *grafting* katalis enzim, *grafting* media radikal bebas (*free radical grafting*) dan metode elektrokimia (Liu *et al.*, 2017). Metode *grafting* dengan media radikal bebas dinilai memiliki kelebihan dibanding dengan metode *grafting* lainnya. Metode *grafting* ini memiliki keuntungan seperti proses yang lebih mudah, ramah lingkungan, serta tidak bersifat toksik atau lebih aman jika diaplikasikan terhadap produk pangan (Jing *et al.*, 2019).

Modifikasi suatu polimer dengan *grafting* melibatkan pembentukan sisi aktif radikal bebas pada polimer induk dengan bantuan inisiator. Radikal yang terbentuk menjadi makromolekul radikal akan diberi senyawa fenol yang akan membentuk senyawa baru (Liu *et al*., 2017). *Free Radical Grafting* dapat menghasilkan konjugasi antar polisakarida dan polifenol dengan menggunakan sistem inisiator redoks. *Free radical grafting* (FRG) dapat membantu meningkatkan sifat alami dan kemampuan bioaktif dari suatu bahan. Teknik *grafting* dengan inisiator radikal bebas merupakan teknik *grafting* yang banyak digunakan dalam bidang pangan dan kesehatan.

Metode *grafting* media radikal bebas memerlukan suatu inisiator, inisiator tersebut memiliki peran penting agar terjadi reaksi dan peningkatan terhadap sifat bioaktif

bahan (Liu *et al*., 2017). Dalam sistem inisiator asam askorbat dan hidrogen peroksida merupakan sistem inisiator yang sering digunakan dalam metode *free radical grafting*. Asam askorbat dan hidrogen peroksida lebih sering digunakan sebagai inisiator karena beberapa kelebihan yang dimilikinya. Menurut Liu *et al.* (2017) hal ini dikarenakan keunggulan dari asam askorbat dan hidrogen peroksida seperti reagen yang murah jika dibanding dengan karbodiimida dan enzim. Skema proses *free radical grafting* dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Skema proses konjugasi asam galat dan dextran (Queiroz *et al.*, 2019).

Queiroz *et al.* (2019) dalam penelitiannya berhasil membuat konjugat polisakarida asam galat memiliki ikatan kovalen, dengan bantuan asam askorbat dan hidrogen peroksida yang membentuk radikal hidroksil. Radikal hidroksil tersebut menyerang atom-H pada polisakarida menjadi makroradikal yang akan berikatan dengan gugus aktif pada asam galat. Skema tersebut menggambarkan proses konjugasi dengan penambahan pasangan redoks dan pembentukan makroradikal.

Kemudian asam galat akan berperan aktif melengkapi makroradikal tersebut sehingga terbentuk konjugat dextran.

Grafting memiliki keunggulan lain yaitu memiliki sifat toksisitas yang cukup rendah serta dapat direaksikan pada suhu ruang. Penggunaan metode *free radical grafting* juga memiliki keuntungan ramah lingkungan, reaksi berlangsung cepat, dan tidak menghasilkan senyawa toksik (Cirillo *et al.*, 2012). Menurut Curcio *et al.* (2009), dalam penelitiannya mengungkapkan bahwa metode *grafting* yang dilakukan pada suhu ruang dapat mereduksi terjadinya degradasi senyawa antioksidan yang digunakan jika menggunakan suhu tinggi. Dalam penelitiannya Cirillo *et al*. (2012), mengkonjugasikan pati jagung-quercetin membentuk ikatan kovalen. Konjugat pati-quercetin tersebut juga memiliki potensi dalam mencegah diabetes dan alzheimer.

Dalam penelitian tersebut konjugat pati-quercetin dengan inisiator redoks asam askorbat dan hidrogen peroksida menghasilkan sifat antioksidan tinggi. Sehingga konjugat pati-quercetin tersebut dipercaya dapat menghambat pembentukan radikal bebas. Sistem inisiator dalam metode *grafting* ini bekerja seperti prinsip reaksi oksidasi dan reduksi. Asam askorbat sebagai reduktor akan mendonorkan satu elektron kepada senyawa peroksida sebagai oksidator sehingga terbentuk radikal. Radikal yang terbentuk akan bereaksi sehingga terbentuk suatu produk baru (Liu *et al.*, 2017).

2.5 Diabetes Melitus

Diabetes melitus (DM) merupakan gangguan sistem metabolisme karbohidrat, hal ini diakibatkan tidak berfungsinya pankreas dalam memproduksi atau menggunakan insulin secara efektif (KemenKes RI, 2014). Tipe diabetes dapat dibagi menjadi beberapa tipe yaitu diabetes melitus tipe 1, diabetes melitus 2, diabetes bentuk hibrida, diabetes dengan jenis spesifik lain, diabetes yang tidak diklasifikasikan, hiperglikemia yang pertama kali terdeteksi saat masa kehamilan (ADA, 2019). Seseorang didiagnosa diabetes jika memiliki gejala seperti poliuria, polidipsi dan polifagi disertai dengan kadar gula sewaktu ≥200 mg/dL serta gula

darah puasa ≥126 mg/dL. Diabetes melitus digambarkan sebagai kondisi kronis yang terjadi ketika ada peningkatan kadar glukosa dalam darah.

Hal ini disebabkan tubuh tidak memiliki cukup atau tidak dapat menghasilkan hormon insulin atau tidak dapat menggunakan insulin secara efektif (*International Diabetes Federation,* 2017). Kadar glukosa yang tinggi dalam tubuh tidak dapat diserap sepenuhnya dan tidak mengalami metabolisme dalam sel. Patofisiologi diabetes melitus tipe 2 terdapat keadaan yang berperan penting yaitu resistensi insulin dan disfungsi sel β pankreas. Diabetes melitus tipe 2 tidak disebabkan oleh kurangnya sekresi insulin, DM tipe 2 disebabkan sel-sel sasaran insulin gagal atau tidak mampu merespon insulin secara normal.

DM tanpa pencegahan dan penanganan yang tepat dapat menjadi lebih buruk. DM juga dapat menimbulkan beberapa penyakit komplikasi seperti kardiovaskuler. Dalam jangka panjang penderita DM dapat mengalami gangguan seperti retinopati diabetik (gangguan mata), nefropati diabetik (gangguan ginjal), neuropati diabetik (gangguan saraf) (Rahman dkk, 2020). Faktor yang dapat mempengaruhi kejadian DM seseorang adalah asupan makanan, faktor stres, hormon, genetik, aktivitas fisik, usia, jenis kelamin, dan obesitas. Penyakit DM banyak diketahui sebagai penyakit yang berkaitan langsung dengan pola dan asupan makanan.

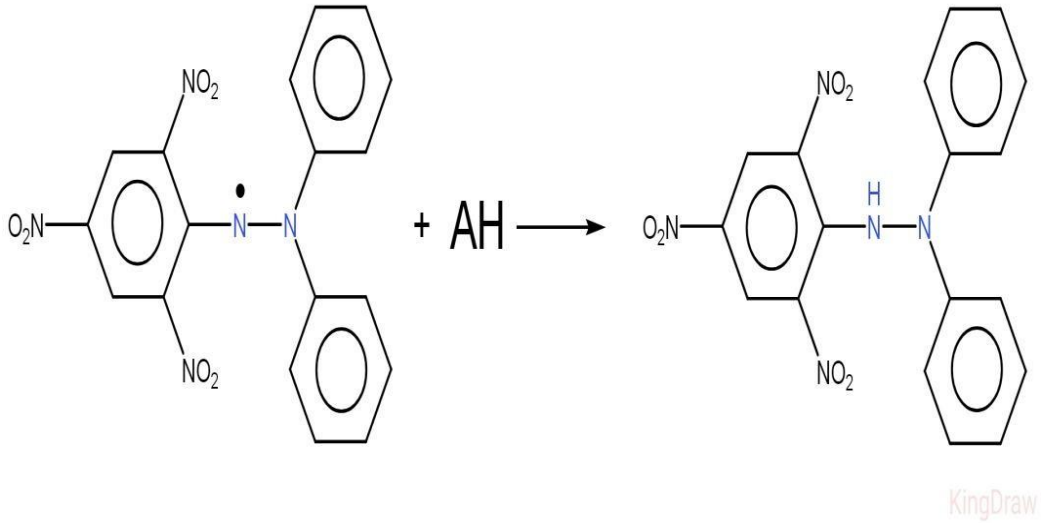
Asupan makanan yang berlebihan, tidak seimbang dan tidak beragam dapat menjadi penyebab meningkatnya faktor resiko kejadian diabetes melitus (Rahman dkk, 2020). Resiko kejadian diabetes meningkat seiring dengan pertambahan usia, hal ini dikarenakan pada usia lebih dari 40 tahun dapat mulai terjadi peningkatan intoleransi glukosa. Peningkatan intoleransi glukosa pada usia lebih dari 40 tahun disebabkan berkurangnya kemampuan sel β pankreas dalam memproduksi insulin. Prevalensi kejadian penyakit DM pada wanita berisiko lebih tinggi dibandingkan pria (Sari dan Purnama, 2019).

2.6 Antioksidan

Antioksidan sebagai zat yang mampu mencegah atau menangkal reaksi oksidasi dengan menghambat terbentuknya radikal bebas. Menurut Soematmaji (1998),

radikal bebas merupakan suatu molekul atau senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak memiliki pasangan pada orbital terluarnya. Elektron yang tidak berpasangan ini bersifat reaktif, menyerang dan mengikat elektron sekitar. Antioksidan menghambat radikal bebas dan mengubahnya menjadi senyawa non radikal bebas (Tursiman dkk., 2012).

Antioksidan dapat diperoleh dari makanan yang mengandung banyak vitamin C, vitamin E, dan beta karoten atau senyawa fenolik. Antioksidan berdasarkan sifatnya dibagi menjadi antioksidan enzimatis dan antioksidan non enzimatis. Antioksidan enzimatis sebagai sistem pertahanan terhadap kerusakan sel contohnya seperti superoksida dismutase (SOD). Antioksidan non enzimatis sebagai antioksidan yang mempertahankan membran sel seperti vitamin C di fase air, vitamin E (Ardhie, 2011). Mekanisme pemberian satu elektron oleh antioksidan kepada radikal bebas dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Mekanisme pemberian satu elektron oleh antioksidan kepada Radikal bebas (Rohmatussolihat, 2009)

Mekanisme kerjanya, antioksidan dapat memiliki dua fungsi yaitu dapat sebagai pemberi atom hidrogen serta dapat memutus rantai oksigen dengan mengubah radikal lipida ke bentuk yang lebih stabil. Antioksidan sebagai suatu substanti yang dalam kadar rendah dapat mencegah serta menghambat proses oksidasi (Da'i dan Triharman, 2010). Radikal bebas melindungi lipid sebelum proses oksidasi terjadi yang disebabkan oleh adanya radikal bebas. Radikal bebas dapat

menyebabkan penyakit degeneratif, mengoksidasi protein, lemak, asam nukleat dan DNA sel. Penambahan senyawa antioksidan dengan konsentrasi rendah dapat menghambat atau mencegah reaksi antioksidan minyak dan lemak. Besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh terhadap laju oksidasi yang terjadi (Winarsi, 2007).

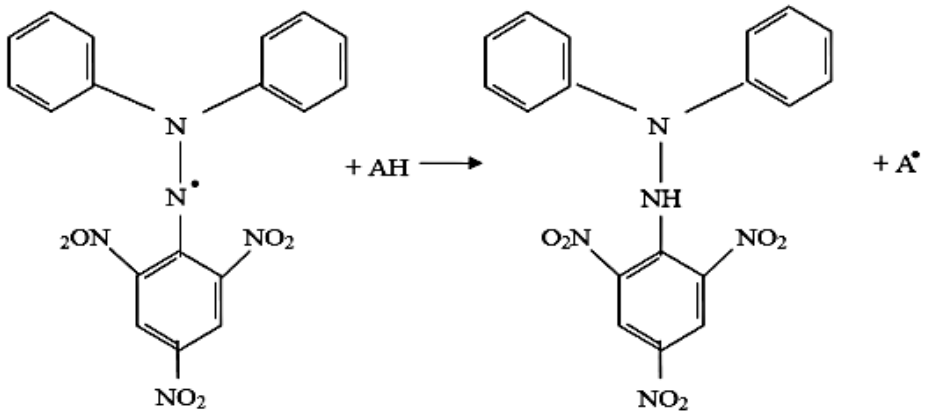
Senyawa radikal bebas berasal dari produk samping hasil proses pembentukan energi tubuh. Antioksidan dapat diklasifikasikan berdasarkan proses mekanismenya, yaitu antioksidan primer dan aktivitas antioksidan sekunder. Antioksidan primer melibatkan penangkapan senyawa radikal bebas dapat bertindak sebagai prooxidant. Aktivitas antioksidan sekunder tanpa penangkapan senyawa radikal bebas dapat menangkap oksigen dan agen pereduksi, agen pengkhelat, menyerap sinar ultraviolet serta mampu mendeaktivasi oksigen singlet (Arifin dan Ibrahim, 2018).

Radikal bebas serta ROS atau biasa dikenal dengan spesies oksigen reaktif secara tidak langsung dapat menjadi penyebab terjadinya infalamasi, gangguan metabolik, penuaan sel, karsinogen dan aterosklerosis. Jika dibiarkan dan terus menumpuk ROS juga dapat merusak DNA, protein serta lipid. Antioksidan mampu mengikat radikal bebas serta molekul yang bersifat reaktif, dengan kemampuan ini senyawa antioksidan mampu menghambat reaksi oksidasi. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron radikal bebas dan menghambat pembentukan radikal bebas (Winarsi, 2007).

2.7 DPPH

Metode absorbansi radikal DPPH merupakan pengukuran penangkal radikal bebas sintetik dalam pelarut organik pada suhu kamar oleh suatu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Prinsip dalam metode DPPH yaitu dengan penangkapan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas DPPH untuk mendapatkan pasangan elektron kemudian mengubahnya menjadi difenil pikril hidrazin (DPPH-H). Pengujian DPPH melihat pengukuran penurunan serapan DPPH pada panjang gelombang maksimum yang sebanding dengan konsentrasi penghambat radikal bebas yang ditambahkan ke larutan DPPH (Bahriul dkk., 2014).

DPPH diketahui secara umum sebagai metode yang cepat, sederhana dan tidak membutuhkan biaya tinggi. DPPH atau dikenal dengan 2,2-*diphenyl*-1-*picrylhydrazyl* sering digunakan untuk menguji senyawa yang dapat berperan sebagai *free radical scavengers* atau donor hidrogen. Menurut Mulyani dkk. (2018), metode DPPH dapat diaplikasikan pada sampel berupa padatan maupun cairan. DPPH banyak digunakan untuk mengevaluasi keefektifan suatu antioksidan. Metode DPPH dilakukan didalam wadah yang tertutup rapat, sebab DPPH rentan terhadap cahaya serta mencegah adanya pengaruh cahaya selama proses perendaman radikal DPPH. Pengujian DPPH didasarkan pada kemampuan suatu antioksidan dalam menurunkan intensitas warna ungu dari radikal DPPH (Sindhi dkk., 2013). Mekanisme reaksi yang terjadi antara DPPH dengan senyawa antioksidan dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Reaksi antara DPPH dengan senyawa antioksidan

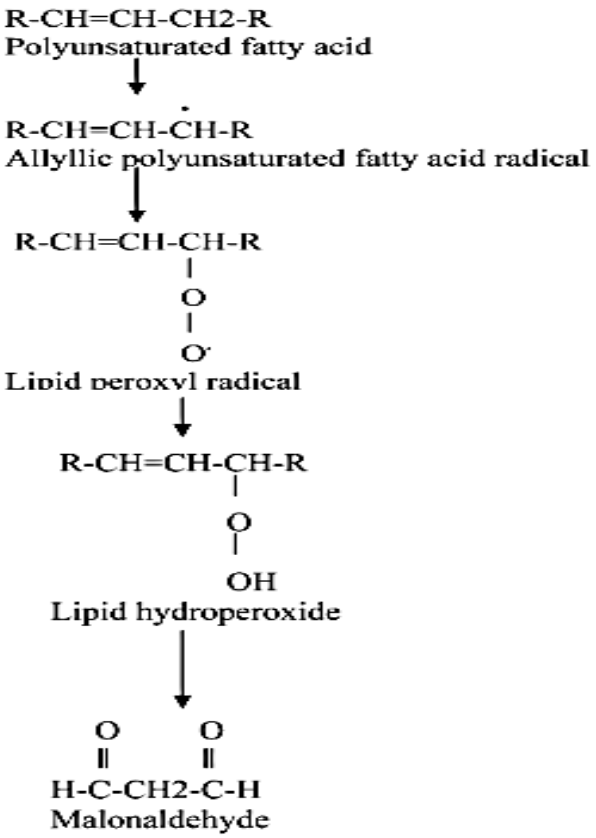
Radikal DPPH memiliki warna ungu, penambahan senyawa dengan aktivitas antioksidan dapat menurunkan intensitas warna ungu. DPPH diukur intensitasnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 514 nm (Molyneux, 2004). Proses penangkalan radikal bebas melalui mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas sehingga senyawa antioksidan mendonorkan satu elektron dan memberikannya kepada radikal bebas agar lebih stabil. Menurut Andayani dkk. (2008), adanya aktivitas antioksidan suatu sampel dapat memberikan dampak perubahann warna yang semula berwarna ungu menjadi kuning pucat.

2.8 Malondialdehid (MDA)

Malondialdehid (MDA) merupakan produk akhir dari proses peroksidasi lipid. Malondialdehid pada umumnya dapat digunakan sebagai indikator kerusakan sel akibat adanya proses stres oksidatif. Malondialdehid diketahui memiliki rumus kimia $C_3H_4N_4O_2$. Malondialdehid (MDA) adalah senyawa yang sangat reaktif dan diketahui jika terakumulasinya MDA merupakan indikator awal mekanisme kerusakan pada sel dan jaringan (Salvayre *et al*., 2010). Malondialdehid merupakan senyawa ketoaldehid yang memiliki tiga rantai karbon yang dihasilkan dari proses peroksidasi lipid didalam tubuh.

Peroksidasi lipid merupakan perusakan oksidatif terhadap asam lemak tak jenuh berantai panjang yang menghasilkan senyawa malondialdehid (MDA). MDA yang terakumulasi jika semakin banyak dapat menyebabkan mutasi DNA yang dapat menyebabkan penyakit kronis. Perlakuan analisis oleh radikal bebas menggunakan pengukuran kadar MDA merupakan analisis secara langsung dan cukup mudah. Kadar MDA diukur dengan menggunakan metode TBARS (*thiobarbituric acid reactive substance).* Metode TBARS menggunakan dasar reaksi MDA terhadap asam tiobarbiturat dan selanjutnya dapat dinilai menggunakan spektrofotometer (Yustika dkk., 2013).

Peroksidasi lipid terjadi melalui reaksi enzimatik maupun non-enzimatik yang melibatkan spesies oksigen reaktif. Mekanisme pembentukan Malondialdehid melalui peroksidasi lipid yang diawali dengan penghilangan atom hidrogen (H) dari molekul lipid tak jenuh rantai panjang oleh radikal hidroksil ($^{*}OH$). Setelah proses penghilangan atom hidrogen ini lipid akan bersifat radikal. Radikal lipid akan bereaksi dengan oksigen (O_2) membentuk radikal peroksil ($^{*}OO$) selanjutnya akan menghasilkan MDA (Mushab dkk., 2020). Mekanisme tahapan peroksidasi lemak dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Tahapan peroksidasi lemak (Alessio *et al.*, 2000)

Kondisi terjadinya stres oksidatif yang berlebihan kemudian ditambah dengan peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) dapat menyebabkaan kerusakan pada sel. Keadaan tersebut akan menyebabkan ROS bereaksi dengan komponen dalam tubuh seperti protein, lemak kemudian DNA. Jika ROS bereaksi dengan protein dapat menyebabkan oksidasi protein, ROS bereaksi dengan DNA dapat menyebabkan mutasi DNA. ROS dapat lebih mudah bereaksi dengan lemak yang biasa diketahui sebagai proses peroksidasi lipid yang dapat menyebabkan kerusakan sel. Peroksidasi lipid akan menyebabkan rantai asam lemak terputus dan menjadi senyawa toksik, salah satunya yaitu malondialdehid (MDA) (Mushab dkk., 2020).

Terdapat beberapa faktor yang berpotensi dapat meningkatkan kadar malondialdehid. Aktivitas fisik secara akut dan tidak teratur diyakini dapat meningkatkan pembentukan radikal bebas yang dapat menyebabkan meningkatnya stres oksidatif dalam tubuh. Kekurangan asupan antioksidan juga

dapat menyebabkan tingkat malondialdehid meningkat. Kurangnya asupan antioksidan ini dapat menyebabkan penurunan perlindungan tubuh terhadap radikal bebas. jika berlangsung dalam waktu yang cukup lama dapat menyebabkan kerusakan sel dan DNA dalam tubuh.

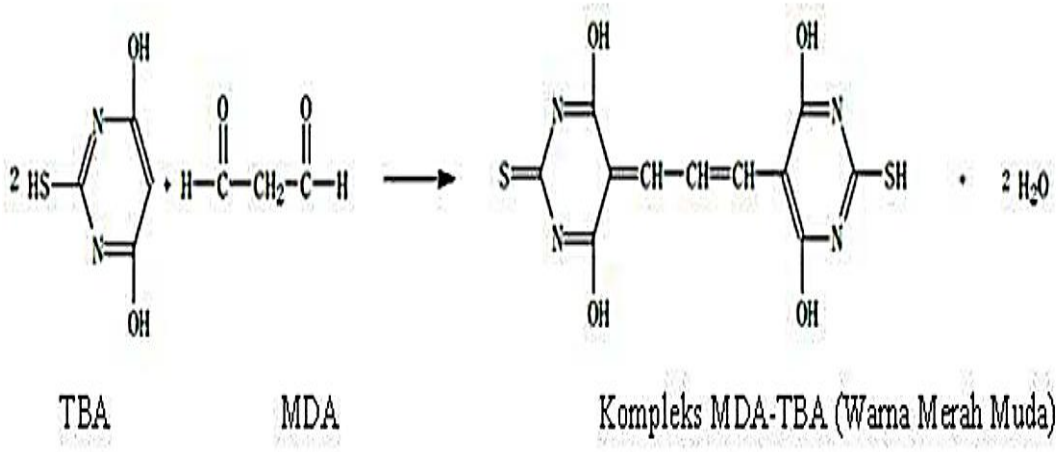
Stres oksidatif berperan penting terhadap patogenesis pada berbagai penyakit, seperti diabetes melitus beserta komplikasinya. Tubuh dapat menahan stres oksidatif ringan dengan bantuan antioksidan alami yang tersedia dalam tubuh dalam keadaan normal. Peroksidasi lipid umumnya terjadi pada membran sel, hal ini dikarenakan asam lemak tidak jenuh merupakan komponen penting penyusun membran sel. Peroksidasi lipid merupakan tahapan yang berkelanjutan. Pengukuran MDA dapat dilakukan dengan melakukan tes TBARS (*thiobarbituric acid reactive substance)* (Powers dan Jackson, 2008).

2.9 *Meat System* (TBARS)

Pengujian dengan *Tiobarbituric acid* (TBA) biasa digunakan dalam penentuan malondialdehid (MDA) untuk mengetahui tingkat oksidasi lipid. Pengujian TBA melibatkan reaksi antara TBA dan MDA yang dihasilkan dari lipid hidroperoksida yang terdekomposisi. Ada 4 macam pengaplikasian dalam uji TBA-MDA terhadap makanan yakni pemanasan langsung pada sampel makanan dengan larutan TBA dan ekstraksi hasil TBA-MDA. Pengaplikasian uji TBA-MDA dengan penentuan MDA pada bagian lipid yang diekstraksi dari sampel makanan, penentuan MDA pada ekstrak larutan asam pada sampel makanan, dan penentuan MDA dari penguapan destilat sampel makanan.

Metode ekstraksi paling cocok untuk memperkirakan kandungan MDA dalam sampel daging, karena daging sendiri tidak terkena perlakuan panas (Estevez *et al.,* 2009). Pengukuran TBARS (*Tiobarbiturat Acid Reactive Substance)* dapat digunakan dalam mengukur kadar MDA dengan baik. Prinsip Pengukuran MDA adalah dengan reaksi satu molekul MDA dengan dua molekul asam *Tiobarbiturat* (TBA) akan membentuk warna merah muda yang dapat diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm (Yustika dkk., 2013). Pada

metode TBARS , MDA yang terbentuk dari hasil proses peroksidasi lipid akan bereaksi dengan TBA pada suhu tinggi (90-100^{o}C).



Gambar 8. Reaksi pembentukan komplek MDA-TBA

Malondialdehid (MDA) merupakan radikal bebas hasil dari metabolit lipid peroksida yang secara umum digunakan sebagai penanda untuk menilai keadaan stres oksidatif. Menurut (Raharjo & Sofos, 1993), peningkatan kadar MDA disebabkan adanya peningkatan kadar peroksidasi lipid akibat radikal bebas. Tingginya kadar MDA plasma membuktikan kerentanan membran sel terhadap reaksi oksidasi. Akibatnya membran sel akan rentan mengalami kerusakan dan dalam jangka waktu yang panjang dapat menyebabkan timbulnya penyakit-penyakit degeneratif. Peningkatan MDA dalam tubuh dapat dikurangi dengan pemberian antioksidan seperti vitamin A, C, E, albumin ataupun senyawa flavonoid lainnya (Winarsi, 2007).

Metode TBARS paling banyak digunakan sebab cukup sensitif, mudah dikerjakan serta sering digunakan dalam keperluan klinis yang dapat merefleksikan kondisi pasien secara klinis pada umumnya. TBARS (*thiobarbituric acid-reactive substance)* tergolong metode yang mudah dikerjakan dan cepat. TBA (*thiobarbituric acid)* ditambahkan ke dalam sampel menghasilkan warna merah muda. Kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Pengujian model *meat system* menggunakan media daging merah segar.

Penambahan TCA diperlukan untuk mengendapkan protein yang terdapat dalam plasma. Kemudian ditambahkan TBA yang berfungsi untuk mengikat MDA, lalu proses inkubasi untuk mempercepat reaksi (Ganhao *et al.,* 2011). Metode TBARS akan memberikan warna pink-cromogen yang dapat diperiksa secara spektrofotometrik. Warna tersebut menyerap cahaya dengan panjang gelombang (λ) 532 nm (Coimbra *et al*., 2006).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian dan Laboratorium Analisis Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober hingga Desember 2021.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan yaitu pati jagung (Sigma-Aldrich), asam galat, H_2O_2 *food grade* 30% ((AR)Merck 107209), asam askorbat (Sigma-Aldrich), akuades dan $Fe_2SO_{4.}7H_2O$. Bahan yang akan digunakan untuk analisis antara lain, akuades, reagen Folin Ciocalteu, metanol, etanol 96%, bubuk DPPH *(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil)*, Na_2CO_3 2%, $K_2S_2O_8$, $Fe_2SO_{4.}7H_2O$ (5mM), TCA (trichloro acid), H_2O_2 *food grade* 30% (100 mM), TBA (*tiobarbiturat acid*), dan alumunium foil, potongan daging sapi merah mentah cincang tanpa lemak.

Alat yang digunakan antara lain adalah neraca analitik, magnetic stirer, penjepit, karet gelang, ember, Erlenmeyer shaker, label, pH meter, oven, loyang, beaker glass, gelas ukur, Erlenmeyer, labu terukur, tabung *dialysis* D9527-100 ft, vortex (H-VM-400), botol gelap tertutup, penangas air, corong, *stopwatch*, *sterofoam*, gunting, penggaris, tabung reaksi, mikropipet, pipet tip, sentrifuse (Plc series), spektrofotometer UV-Vis (Inesa).

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua tahap. Tahap pertama bertujuan untuk membuat konjugat pati dan asam galat dengan berbagai konsentrasi. Kemudian pada tahap kedua penelitian dilakukan untuk menganalisis sifat antioksidan konjugat pati dan asam galat. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) non faktorial dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan. Formulasi pati jagung dan asam galat dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Formulasi pati jagung dan asam galat

Formula	Konsentrasi Asam Galat (terhadap berat pati)	Berat Pati Jagung	Berat Asam Galat	Metode FRG
P1	0%	25	0	Ya
P2	0,5%	25	0,125	Ya
P3	1%	25	0,25	Ya
P4	1,5%	25	0,375	Ya
P5	2%	25	0,5	Ya
PM	-	25	-	Tidak

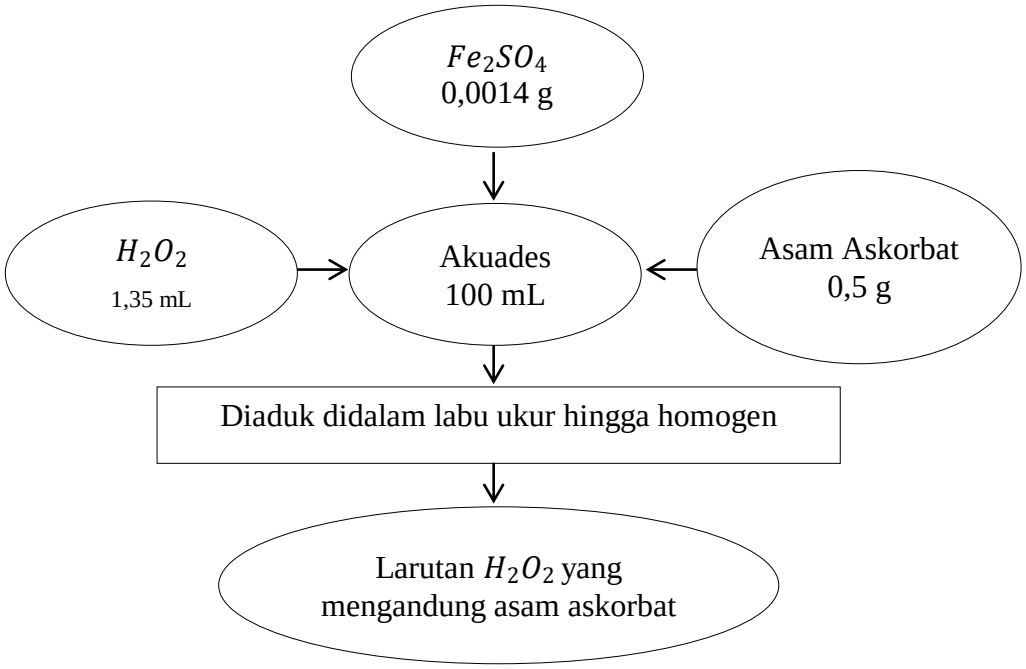
Perlakuan pada penelitian ini adalah penambahan asam galat dengan beberapa konsentrasi terdiri dari 0%; 0,5%; 1%; 1,5%; 2% terhadap berat pati. Data yang diperoleh diuji kehomogenan data, data dianalisis ragam untuk mendapatkan penduga ragam galat dan uji signifikan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan. Selanjutnya dilakukan uji lanjut dengan uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf nyata 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Pembuatan Senyawa Sumber Radikal

Persiapan awal dengan proses pembuatan senyawa sumber radikal dengan larutan H_2O_2 yang mengandung asam askorbat dengan mengikuti metode yang digunakan Cirillo *et al.* (2012) yang dimodifikasi. Larutan H_2O_2 *food grade,* akuades, Fe_2SO_4, dan asam askorbat dimasukkan kedalam beaker glass, kemudian diaduk hingga larut. Penambahan Fe_2SO_4 guna mempercepat proses

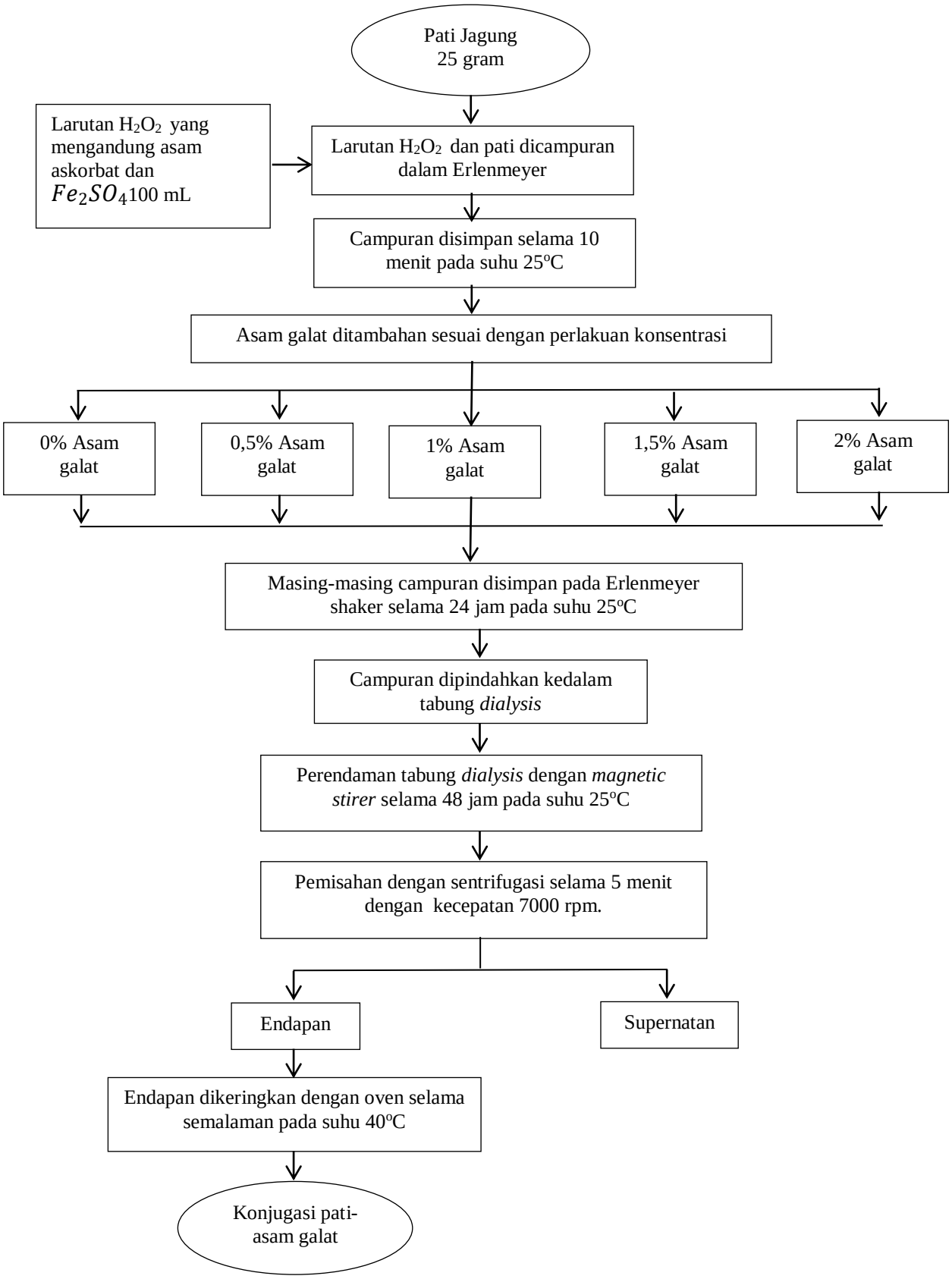
pembentukan senyawa radikal diagram alir proses pembuatan larutan H_2O_2 yang mengandung asam askorbat dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Proses pembuatan senyawa sumber radikal Cirillo *et al*. (2012) dengan modifikasi.

3.4.2 Persiapan Sintesis Konjugat Pati-Asam Galat

Persiapan sintesis konjugat pati-asam galat dilakukan berdasarkan metode yang digunakan Cirillo *et al*. (2012) dengan sedikit modifikasi. Pati jagung sebanyak 25g dilarutkan dalam beaker glass 500 mL, dengan ditambahkan 100 mL Aquadest yang mengandung 1,35 mL H_2O_2 1,0 M Fe_2SO_4 0,001 g (Liu *et al.*, 2017) dan asam askorbat 0,5 g , kemudian didiamkan selama 10 menit. Asam galat ditambahkan ke dalam campuran dengan perbandingan berat pati-asam galat masing-masing 0,5%; 1%; 1,5%; dan 2%. Campuran diletakkan dalam erlenmeyer dan ditaruh pada erlenmeyer shaker pada suhu 25°C selama 24 jam kecepatan 200 rpm, kemudian dimasukkan ke dalam tabung dialysis (MWCD : 14.000) dan direndam didalam wadah yang berisi aquadest di magnetic stirer pada suhu 20°C selama 48 jam. Pergantian aquadest dilakukan setiap 24 jam. Larutan yang telah diperoleh selanjutnya disentrifugasi selama 5 menit dan dikeringkan semalaman dengan pengering oven pada suhu 40°C. Diagram alir proses pembuatan konjugat pati-asam galat dengan metode *free radical grafting* (FRG) dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Persiapan sintesis konjugat pati-asam galat menggunakan metode *free radical grafting* yang dimodifikasi (Cirillo *et al*,. 2012)

3.5 Pengamatan

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap total fenol, aktivitas penghambatan radikal dengan menggunakan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil* (DPPH), dan aktivitas penghambatan radikal metode *meat system thiobarbituric acid-reactive species* (TBARS). Metode total fenol mengikuti metode Ismail dkk. (2012), metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil*) mengikuti metode yang sebelumnya telah dilakukan oleh Ismail dkk. (2012) dan Shimamura *et al.* (2014) dengan sedikit penyesuaian. Metode *meat system thiobarbituric acid-reactive species* (TBARS) mengikuti metode Amany *et al.* (2012) dengan sedikit penyesuaian.

3.5.1 Total Fenol

Pengujian Total fenol mengikuti metode yang dilakukan oleh Ismail dkk. (2012) dengan sedikit penyesuaian. Pada penelitian ini tahapan awal dengan menyiapkan larutan konjugat pati-asam galat. Sebanyak 0,01 g sampel ditambahkan 1mL aquadest, kemudian divorteks selama 1 menit. Setelah itu sampel disentrifuge selama 5 menit. Kemudian dilakukan tahapan pengujian total fenol dengan mengambil sebanyak 0,2 mL larutan sampel yang sebelumnya telah disiapkan. Sebanyak 0,2 mL aquadest dan 0,2 mL larutan folin ditambahkan pada larutan sampel kemudian divorteks selama 1 menit. Sebanyak 4 mL Na_2CO_3 (2%) lalu divorteks kembali selama 1 menit. Larutan didiamkan pada ruang gelap dan suhu kamar selama 30 menit. Selanjutnya, absorbansi sampel diukur dengan panjang gelombang 760 nm.

Hasil yang telah diperoleh diplotkan dengan kurva standar asam galat yang sebelumnya telah dibuat dengan persamaan regresi linier. Sumbu x dinyatakan sebagai hubungan antara konsentrasi asam galat, untuk besarnya hasil reaksi asam galat dengan pereaksi Folin-Ciocalteu dinyatakan dengan sumbu y. Dilakukan pembuatan kurva standar fenol dengan menggunakan bubuk asam galat. Dilakukan dengan menimbang 10 mg asam galat kemudian dilarutkan ke dalam 100 mL air aquadest. Selanjutnya dibuat pengenceran 0%, 20%, 40%, 60%, 80%,

dan 100%. Kemudian diberi perlakuan seperti pada sempel. Hasil yang telah diperoleh diplotkan pada kurva standar, yaitu :

$$y = ax+c$$

Keterangan :
y = Absorbansi sampel
x = Konsentrasi ekuivalen asam galat
a = Gradien
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 Penghambatan Metode DPPH

Analisis aktivitas antiokasidan dalam pengujian ini dilakukan dengan 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 yang menjadi berkurang atau memudar hingga kuning atau kuning muda. Perubahan warna ini diamati setelah sebelumnya dilakukan inkubasi selama 30 menit dalam wadah gelap dan tertutup. Kemudian untuk mendapatkan hasil perlu dilakukan pengukuran absorbansi.

Analisis aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH diawali dengan persiapan sampel sebanyak 0,1 g ke dalam tabung reaksi yang sebelumnya telah ditutup dan dilapisi dengan aluminium foil. Semua tabung dilapisi alumunium foil hingga menutupi seluruh bagian tabung. Kemudian ditambahkan 5 mL etanol 96%, divorteks hingga larut, jika tidak larut sampel disentrifuse dan diambil bagian larutannya saja. Larutan sampel diambil sebanyak 0,2 mL ditambahkan 2 mL larutan DPPH dan ditambahkan etanol sampai 8 mL. Pada setiap penambahan larutan tabung divortex selama 1 menit. Selanjutnya diinkubasi selama 30 menit

ruangan tertutup, lalu dilakukan pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer.

Larutan blanko merupakan etanol tanpa campuran sebanyak 8 mL. Larutan kontrol dibuat dengan mengambil sebanyak 2 mL DPPH ditambahkan dengan 6 mL etanol kemudian diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi DPPH diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm setelah inkubasi. Penurunan nilai serapan larutan DPPH setelah penambahan sampel merupakan tolak ukur kemampuan antioksidan pada sampel. Nilai serapan larutan DPPH dihitung sebagai persen aktivitas antioksidan dengan rumus sebagai berikut:

$$\textbf{\% Rasio Penghambatan} = \frac{(Ak-As)}{Ak}\ x\ 100\%$$

Keterangan :
Ak = Absorbansi kontrol
As = Absorbansi sampel

3.5.3 Aktivitas Penghambatan Metode *Meat System*

Uji ini dilakukan mengikuti uji yang telah dilakukan oleh Amany *et al.* (2012), dengan sedikit penyesuaian. Pada tahap awal penelitian ini dilakukan dengan menyiapkan daging sapi merah segar. Daging tersebut diambil bagian daging merahnya saja tanpa bagian lemak yang sudah dihaluskan sebanyak 5 g daging merah, ditambah dengan 0,2 g sampel pati sesuai perlakuan. Setelah dicampurkan sampel ditambah dengan 5 mL aquadest diaduk hingga tercampur rata. Kemudian ditambah dengan 0,1 mL $FeSo_4.7H_2O$ (5 mM) dan 0,1 mL H_2O_2 (100 mM) diaduk hingga tercampur rata, kemudian divorteks selama 1 menit hingga rata. Setelah selesai sampel diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruang.

Tahapan uji dilakukan dengan mengambil 1 g campuran sampel, ditambah dengan 4 mL NaCl (0,85%) kemudian diaduk dan divorteks 1 menit. TCA (*trichloroacetic acid*) sebanyak 1 mL ditambahkan ke campuran sampel, divorteks 1 menit kemudian campuran disentrifugasi selama 5 menit. Setelah itu diambil

supernatan sebanyak 3 mL, kemudian 1 mL TBA (*thiobarbituric acid*) divorteks selama 1 menit. Sampel diinkubasi pada suhu 100°C selama 35 menit. Setelah diinkubasi sampel kemudian dimasukkan ke dalam air dingin selama 10 menit. Kemudian diukur dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 532 nm. Hasil absorbansi yang diperoleh berupa mg malondialdehid/kg daging. Nilai serapan *meat system* dihitung sebagai persen aktivitas antioksidan dengan rumus sebagai berikut:

$$\textbf{\% Rasio Penghambatan} = \frac{(Ak - As)}{Ak} \; x \; \textbf{100\%}$$

Keterangan :
Ak = Absorbansi kontrol
As = Absorbansi sampel

V. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Konsentrasi asam galat yang dikonjugasikan pada pati jagung dengan metode *free radical grafting* berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan.
2. Formulasi asam galat 2% terhadap pati jagung menghasilkan total fenol 62,97 ppm GAE, aktivitas penghambatan DPPH 31,52% dan aktivitas penghambatan *meat system* 74,87%.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai variasi suhu pengeringan serta metode *grafting* pada pati jagung dengan menggunakan senyawa fenolik lainnya, dan pengujian IC_{50} pada perlakuan terbaik konjugat pati-asam galat sehingga dapat digunakan sebagai acuan untuk memodifikasi pati dengan metode *grafting* selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

Ahn, J., I.U.G., dan Fernando, C.N. 2002. Antioxidant Properties of Natural Plant Extracts Containing Polyphenolic Compound in Cooked Ground Beef. *Journal Agrict Food Chem*. 67: 1363-1369.

Al-Fawaeir, S., Akgül E. Ö., Çaycı, T., Demirin, H., Kurt, Y.G., Aydın, I., Ağıllı, M., Özkan, E., Yaman, H., Çakır, E., dan Erbil, M.K. 2011. Comparison of two Methods for Malondialdehyde Measurement. *J. Clin. Anal. Med*. 2 (2): 11-4.

Alessio, H.M., Hagerman, A.E., Fulkerson, B.K., Ambrose, J., Rice, R.E., dan Wiley, R.L. 2000. Generation of Reactive Oxygen Species After Exhaustive Aerobic and Isometric Exercise. *Med Scie Sports Exerc*. 32(9): 1576-1581.

Amany, B., Arafat, S., dan Abeer, A.,K. 2012. Antioxidant Activities of Date Pits in a Model Meat System. *International Food Research Journal*. 19: 223-227.

American Diabetes Association. 2015. *Standards Medical Care in Diabetes 2015*. Diabetes Care. 38 (1).

American Diabetes Association. 2019. *Classification and Diagnosis of Diabetes : Standards of Medical Care in Diabetes.* Diabetes Care. 42 (1).

Andayani, R., Maimunah, dan Lisawati, Y. 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (Solanum lycopersicum L.). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi.* 13(1): 31-37.

Arifin, Bustanul dan Ibrahim, Sanusi. 2018. Struktur Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*. 6 (1) : 21-29.

Ardhie, A.M. 2011. Radikal Bebas dan Peran Antioksidan Dalam Mencegah Penuaan. *Jurnal Medicinus*. 24(1):5.

Banks, W., dan Greenwood, C.T. 1975. *Starch its Components*. Halsted Press. New York. Hal. 157.

Borra, S.K., Gurumurthy, P., Mahendra, J., Jayamathi, K.M., Cherian, C.N., dan Chand, R. 2013. Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of Curcumin Determined by Using Different in Vitro and ex Vivo Models.

Journals of Medicinal Plants Research. 7(36) : 2680-2690.

Bahriul, P., Nurdin, R., dan Anang, W.M.D. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dengan Menggunakan *1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. J. Akademi. Kim.* 3(3): 143-149.

Budiyati, C. S., dan Ariyanti, D. 2014. Taro Tube Flour Modification via Hydrogen Peroxide Oxidation. *International Journal of Science and Engineering*. 7(2): 137-142.

Chou S.F, Luo L.J., dan Lai J.Y. 2016. Gallic acid grafting effect on delivery performance and antiglaucoma efficacy of antioxidant-functionalized intracameral pilocarpine carriers. *Acta Biomaterialia*. 1(38): 116-128.

Cirillo, G., Puoci, F., Iemma, F., Curcio, M., Parii, O.I., Spizzirri, U.G., Altimari, I., dan Picci, N. 2012. Starch-Quercetin Conjugate by radical grafting: Synthesis and Biological Characterization. *Pharm Dev Technol.* 17(4): 66-76.

Coimbra, S., Castro, E., Rocha, P.P., Rebelo, I., Rocha, S., dan Santos, S.,A. 2006. The effect of Green Tea in Oxidative Stress. *Clin. Nutr*. (25): 790-6.

Curcio, M., Puoci, F., Lemma, F., Parisi, O.,I., Cirillo, G., Spizzirri, U.,G., dan Picci, N. 2009. Covalent Insertion of Antioxidant Molecules on Chitosan by a Free Radical Grafting Procedure. *Journal Agriculture Food Chem.* 57(13): 5933-5938.

Da'i, M., dan Triharman, F. 2010. Uji Aktivitas Penangkap Radikal DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) Isolat Alfa Mangostin Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L.). *Pharmacon*. 11(2): 47-50.

Diao, Y., Yu, X., Zhang, C., dan Jing Y. 2020. Quercetin-Grafted Chitosan Prepared by Free Radical Grafting Characterization and Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Properties. *Journal Food Science Technology*. 57(6): 2259-2268.

Ega, L., dan Lopulalan, C., G., C. 2015. Modifikasi Pati Sagu dengan Metode Heat Moisture Treatment. *Journal Teknologi Pertanian.* 4(2): 33-40.

Estevez , M., Ventanaz, S., Ramirez, R., dan Cava, R. 2004. Analysis of Volatiles in Liver Pates with Added Sage and Rosemary Essential Oils by Using SPME-GC-Ms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52: 5168-5174.*

Fahn, A. 1992. *Anatomi Tumbuhan edisi ketiga* (Ed. Tjitrosomo, S.S.). Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hal 24-36.

Farhoosh, Reza dan Nyström, Laura. 2018. Antioxidant Potency of Gallic Acid, Methyl Gallate and their combinations in sunflower oil triacylglycerols at high temperature. *Journal Food Chemistry*. 244 : 29-35.

Ganhao, R., Esteves, M., dan Morcuende, D. 2011. Suitability of The TBA Method for Assessing Lipid Oxidation in A Meat System With Added Phenolic-Rich Materials. *Food Chemistry*. (126): 772-778.

Haryani, K., Siregar, A., dan Larasati, D., L. 2020. Modifikasi Pati Sorgum (*Sorgum bicolor L.)* dengan Metode Oksidasi Menggunakan Hidrogen Peroksida. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia.* 15(2): 98-101.

Han, J.A. dan Lim, S.T. 2004. Structural Changes in Corn Starches During Alkaline Dissolution by Vortexing. *Carbohydrate Polymers*. 55: 193-199.

He, J., Xu, L., Yang, L., dan Wang, X. 2018. Epigallocatechin Gallate is the Most Effective Catechin Againts Antioxidants Stress via Hydrogen Peroxide and Radical Scavenging Activity. *Medical Science Monitor.* (24): 8198-8206.

Hihat, S., Remini, H., dan Madani, K. 2017. Effect of Oven and Microwave Drying on Phenolic Compounds and Antioxidant Capacityof Coriander Leaves. *International Food Research Journal*. 24(2):503-509.

Hu, Q., Wang, T., Zhou, M., Xue, J., dan Luo, Y. 2016. In Vitro Antioxidant-Activity Evaluation of Gallic-Acid-Grafted Chitosan Conjugate Synthesized by Free Radical-Induced Grafting Method. *Journal Agric Food Chem.* 64(29): 5893-900.

Huang, D., Ou, B., dan Prior, R. 2005. The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(18): 41-56.

IDF. 2017. *International Diabetes Federation*. Diabetes Atlas 8th edition. Hal. 30-35.

IDF. 2019. *International Diabetes Federation*. Diabetes Atlas 9th edition. Hal. 38-40.

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*. Vol 12(2) : 84-88.

James, N., Miller, B., dan Lafayette, W. 1997. Starch Modification : Challenges and Prospects. *Journal of Macromolecular Science.* 32(4): 751-757.

Jing, Y., Diao, Y., dan Yu, X. 2019. Free Radical-Mediated Conjugation of Chitosan with Tannic Acid: characterization and antioxidant Capacity. *Journal Reactive and Functional Polymers.* 135 : 16-22.

Junaidi E., dan Anwar, Y.,A.,S. 2018. Antivitas Antibakteri dan Antioksidan Asam Galat dari Kulit Buah Lokal yang Diproduksi dengan Tanase. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia.* 14(1): 131-142.

Kalaivanam, K.,N., Dharmalingam, M., dan Marcus, S.,R. 2006. Lipid Peroxidation in Type 2 Diabetes Melitus. *Inter Jour. Diab. Dev. Ctries*. 26(30):2

Khatulistiwa, P.W.B., Permana, I.D.G.M., dan Puspawati, I.G.A.K.D. 2020. Pengaruh Suhu Pengeringan Oven Terhadap Aktivitas Antioksidan Bubuk Daun Cemcem (*Spondias pinnata* (L.f) Kurz). *Jurnal Itepa*. 9(3):350-356.

Kementerian Kesehatan RI. 2014. *Waspada Diabetes Eat Well Live Well*. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. Jakarta. Hal. 5.

Koswara, S. 2009. *Teknologi Modifikasi Pati*. Ebook Pangan. Hal. 10-28.

Kusnandar, F. 2010. *Kimia Pangan : Komponen Makro.* Dian Rakyat. Jakarta. Hal. 40-44.

Lee, J., Koo, N., dan Min, D.B. 2004. Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutreceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 3: 21-33.

Lemus, M., Ah-Hen, R.K., Gãlvez A.V., Honores, C., dan Moraga, N.O. 2016. Stevia rebaudiana Leaves: Effect of Drying Process Temperature on Bioactive Components, Antioxidant Capacity and Natural Sweeteners. *Plantt Food for Human Nutrition*. 71(1)49-56.

Liu, J., Pu, H., Liu, S., Kan, J., dan Jin, C. 2017. Synthesis, Characterization, Bioactivity and Potential Application of Penolic Acid Grafted Chitosan : A Review. *Journal Carbohydrate Polymer*. 174 : 999-1017.

Lopez, M., Martinez, F., Del-Valle, C., Ferrit, M., dan Luque, R. 2003. Study of Phenolic Compounds as Natural Antioxidants by a Fluorescence Method. *J. Talanta. 60: 609-616.*

Makaryani, I., Amalia, L., Ramadhani, N.R., Pertiwi, K.I., dan Aprilia,, D.D. 2014. Pengaruh Pemberian Pangan Antioksidan Terhadap Kadar Malondialdehid Plasma Mahasiswi Penyuka Gorengan. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia.* 10(4): 169-179.

Marino, T., Galano dan Russo, N. 2014. Radical Scavenging Ability of Gallic Aci toward OH and OOH Radicals : Reaction Mechanism and Rate Constant from the Density Functional Theory. *The Journal of Physical Chemistry*. 118(3): 10380-10389.

Miyazaki, M., Hunga, P.V., Maedad, T., dan Morita, N. 2006. Recent Advances in Application of Modified Starches for Breadmaking. *Journal Elsevier*. 17(11): 591-599.

Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical *Diphenylpicryl-hydrazyl* (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *J. Scie.Technol.* 26: 211-219.

Mulyani, T., Ariyani H., Rahimah, dan Rahmi, S. 2018. Formulasi dan Aktivitas Antioksidan Lotion Ekstrak Daun Suruhan (*Peperomia pellucida L.). Journal of Current Pharmaceutical Sciences.* 2(1): 111-117.

Mushab, Hairrudin, dan Abrori Cholis. 2020. Perbandingan Peningkatan Kadar Malondialdehid (MDA) Serum Setelah Olahraga Pagi dan Malam Hari pada Orang Tidak Terlatih. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 9(2): 211-217.

Pal, S.M., Avneet, G., dan Siddhraj, S.S. 2018. Gallic Acid: Pharmacogical Promising Lead Molecule: A Review. *IJPPR.* 10(4): 131-138.

Pamungkas, J.D., Anam, K. dan Kusrini, D. 2016. Penentuan Total Kadar Fenol dari Daun Kersen Segar, Kering, dan Rontok (*Muntingia calabura L.*) serta Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH. *Journal Kimia Sains dan Aplikasi.* 19 (1) : 15-20.

Paramita, N.L.P.V., Andari, N.P.T.W., Andani, N. M. D. dan Susanti, M.P. 2020. Penetapan Kadar Fenol Total dan Katekin Daun Teh Hitam Ekstrak Aseton Teh Hitam dari Tanaman *Camellia sinensis war. Assamica. Journal of Chemistry*. 14 (1) : 44-50.

Patel, S.,S. dan Goyal, R.K. 2011. Cardioprotective Effects of Gallic Acid in Diabetes Induced Myocardial Dysfunction in Rats. *Pharmacognosy Research.* 3(4): 239-245.

Paulinus, Y.,V.,G., Jayuska, A., Ardiningsih P. dan Nofiani R. 2017. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Total Fenol Fraksi Etil Asetat Buah Palasu (*Mangifera caesia Jack)*. *JKK.* 4(1): 47-50.

Perera, A., Meda, V. dan Tyler, R.T. 2010. Resistant Starch : A Review Of Analytical Protocol For Determining Resistant Starch And Of Factors Affecting The Resistant Starch Content Of Food. *Food Res. Int.* 43: 1959 – 1974.

Pham-Huy, L.A., He. H., dan Pham Huy, C. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int. Journal Biomed Sci*. 4(2): 89-96

Powers, S.K., dan Jackson, M.J. 2008. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiol Rev*. 88: 1243-1276.

Prawita, D.,S. 2019. Diabetes Melitus dan Antioksidan. *Jurnal Kesehatan dan Kedokteran*. 1(1): 48-52.

Putra, F.D., dan Mahmudiono, T. 2012. Hubungan Tingkat Konsumsi Karbohidrat, Lemak, dan Dietary Fiber dengan Kadar Gula Darah pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *Media Gizi Indonesia*. 2(9): 1528–1538.

Putri, W.D.R., Zubaidah, E., Ningtyas, D.W., dan Wijaya, Y. 2014. Mikrostruktur dan Sifat Fisikokimia Tepung Ubi Jalar (*Ipomea batatas, L.*) Termodifikasi dan Aplikasinya pada Pembuatan Beras Imitasi. (*Prosiding Seminar dan Lokakarya Nasional FKPT-TPI*). 419-425.

Queiroz, Moacir, M., Karoline, S., Diego, S., Guilherme, R., Hugo, C., dan Lendro. 2019. Gallic Acid-Chitosan Conjugate Inhibits the Formation of Calcium Oxalate Crystals. *Molecules.* 24(11): 1-19.

Rahman, H.F., Santoso, A.W. dan Siswanto, H. 2020. Pengaruh Edukasi Perawatan Kaki Dengan Media Flip Chart Terhadap Perubahan Perilaku Klien Diabetes Melitus. *Jurnal Nasional Ilmu Kesehatan (JNIK).* 2(3): 151-168.

Raharjo, S., dan Sofos, J. N. (1993). Methodology for measuring malonaldehyde as aproduct of lipid peroxidation in muscle tissues: A review. *Meat Science*. 35: 145–169.

Rakhmat, I.I., Yulianti, E.R. dan Faramayuda, F. 2018. Aktivitas Antioksidan Polifenol Asam Galat Teh Hijaju Gambung Melalui Penurunan Kadar Malondialdehid Tikus Diabetes Melitus. *Media Kartika.* 1 (1): 1-15.

Rivai, H., Nurdin, H., Suyani, H., dan Bakhtiar A. 2010. Pengaruh Cara Pengeringan Terhadap Perolehan Ekstraktif, Kadar Senyawa Fenolat dan Aktivitas Antioksidan Dari Daun Dewa (*Gynura pseudochina* [L.] D.C). *Majalah Obat Tradisional*. 15(1): 26-33.

Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan, Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia. *Bio Trends.* 4 (1): 5-9.

Salvayre, N.A., Auge, N., Ayala, V., Basaga, H., Boada, J., Brenke, R., dan Chapple, S. 2010. Pathological Aspects of Lipid Peroxidation. *Journal of Free Radical Research*. 44(10): 1125-1171.

Sandhu, K., dan Singh, N. 2007. Some Properties of Corn Starches II: Physicochemical, Gelatinization, Retrogradation, Pasting and Gel Textural Properties. *Food Chemistry*. 101: 1499-1507.

Sari, N., dan Purnama, A. 2019. Aktivitas Fisik dan Hubungannya dengan Kejadian Diabetes Melitus. *Jurnal Kesehatan*. Vol 2(4):368-381.

Shahidi, F., dan Yeo, J. 2018. Bioactivities of Phenolics by Focusing on Supression of Chronic Diseases: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 19(6).

Shalaby E.A., dan Shanab, S.M.M. 2013. Antioxidant Compounds, Assays of Determination and mode of Action. *Afr J Pharm Pharmacol.* 7(10): 528-539.

Shimamura, T., Sumikura, Y., Yamazaki, T., Tada, A., Kashiwagi, T., Ishikawa, H., Matsui, T., Sugimoto, N., Akiyama, H. dan Ukeda, H. 2014. Applicability of The DPPH Assay for Evaluating The Antioxidant Capacity of Food Additives- Inter-Laboratory Evaluation Study. *Journal Anal Sci.* 30(7): 17-21.

Simão AA., Marques TR., Marcussi S., dan Corrêa AD. 2017. Aqueous extract of Psidium guajava leaves: phenolic compounds and inhibitory potential on digestive enzymes. *An Acad Bras Cienc*. 89(3 Suppl): 2155-2165.

Sindhi, V., Gupta, V., Sharma, K., Bhatnagar, S., Kumari, R., dan Dhaka, N. 2013. Potential Application of Antioxidants- A Review. *Journal of Pharmacy Research. 7(9): 828-835.*

Soematmaji, D.W. 1998. Peran stress oksidatif dalam Patogenesis Angiopati Mikro dan Makro DM. *Medica.* 5(24): 318-325.

Suarni dan Widowati, S. 2007. *Struktur, Komposisi, dan Nutrisi Jagung.* Pusat Penelitian Tanaman Pangan. Bogor. Hal. 410-426.

Sunarti. 2020. *Antioksidan Dalam Penanganan Sindrom Metabolik*. UGM Press. Yogyakarta. Hal. 39-81.

Tester, R. F., Karkalas, J., dan Qi, X. (2004). Starch—Composition, Fine Structure and Architecture. *Journal of Cereal Science*. 39(2): 151-165.

Triandita, N., Zakaria, F.R., Prangdimurti, E. dan Putri, N.E. 2016. Perbaikan Status Antioksidan Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 dengan Tahu Kedelai Hitam Kaya Serat. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 27(2): 123-130.

Tursiman, Ardiningsih, P. dan Nofiani, R. 2012. Total Fenol Fraksi Etil Asetat Dari Buah Asam Kandis (*Garcinia dioica Blime*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa.* 1(1): 45-48.

Veridiana, N., dan Nurjana M.A. 2019. Hubungan Perilaku Konsumsi dan Aktifitas Fisik dengan Diabetes Melitus di Indonesia. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 47(2): 97-106.

Widowati, Wahyu. 2008. Potensi Antioksidan Sebagai Antidiabetes. *Jurnal Kesehatan Masyarakat.* 7(2):1-11.

Winarsi, Hery. 2007. *Aktivitas Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius. Yogyakarta. Hal 122-179.

Wirakartakusumah, M.,A., Rizal, S., dan Syah, D. 1989. Pemanfaatan Teknologi Pangan Dalam Pengolahan Singkong. *Buletin Pusbangtepa*. Bogor. Hal. 7-18.

Yustika, A.R., Aulanni'am dan Prasetyawan, S. 2013. Kadar Malondialdehid (MDA) dan Gambaran Histologi pada Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Pasca Induksi *Clysporine-A*. *Kimia Student Journal*. 1(2): 222-228.

Zeng, Y., Deng, M., Lv, Z., dan Peng, Y. (2014). Evaluation of antioxidant activities of extracts from 19 Chinese edible flowers. *Springer Plus*. 3, 315. doi: 10.1186/2193-1801-3-315.

Zhao, J., Khan, I.A., dan Fronczek, F.R. 2011. Gallic Acid. *Acta Cryst*. 67: 316-317.

Zuraida, Sulistiyani, Sajuthi, dan Suparto, I.H. 2017. Fenol, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Kulit Batang Pulai (Alstonia scholaris R.Br). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan.* 35(3): 211-219.