

**PENGARUH KOMBINASI KONSENTRASI DAN CARA PENAMBAHAN  
MINYAK SAWIT MERAH TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN  
NASI**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**Andini Fadhilah Sari**

**1914051034**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

## **ABSTRACT**

### **EFFECT OF COMBINATION CONCENTRATION AND METHOD OF ADDITIONING RED PALM OIL ON ANTIOXIDANT ACTIVITY OF RICE**

**By**

**ANDINI FADHILAH SARI**

RPO (Red Palm Oil) contains high levels of carotenoids and vitamin E (tocopherols and tocotrienols) so that it has the potential to be a good source of antioxidants. Adding RPO into rice cause be expectation that rice will become a functional food with high antioxidants capacity so that it has many health benefits. The purpose of this study was to determine the effect of the combination of RPO concentration and the method of adding RPO to rice on the radical scavenging activity of DPPH, ABTS, and meat system (TBARS). This study was arranged in a non-factorial Complete Randomized Block Design (CRBD) with three replications and 8 treatment combinations consist of C1P1, C2P1, C3P1, C4P1, C1P2, C2P2, C3P2, and C4P2. C is the RPO concentration treatment (C1: 1%, C2: 2%, C3: 3%, C4: 4%) and P is the method of adding RPO (P1: before cooking and P2: after cooking). The data on the radical scavenging activity of the DPPH, ABTS, and meat system (TBARS) methods were analyzed for variance to determine whether there was any effect of the combination of treatments which were then further processed with a 5% DMRT test. The results showed that the combination of RPO concentration and the method of adding RPO to rice had a significant effect on the radical scavenging activity of DPPH, ABTS but had no significant effect on the radical scavenging activity using the meat system method (TBARS). The radical scavenging activity of rice with the addition of RPO with DPPH method ranges from 3.73% -10.41%, the ABTS method ranges from 4.13% -13.5%, and the meat system method (TBARS) ranges from 21% - 34%.

Kata kunci: Antioxidant, ABTS, DPPH, *meat system* (TBARS), red palm oil, white rice

## ABSTRAK

### PENGARUH KOMBINASI KONSENTRASI DAN CARA PENAMBAHAN MINYAK SAWIT MERAH TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN NASI

Oleh

**ANDINI FADHILAH SARI**

MSM (Minyak Sawit Merah) mengandung karotenoid dan vitamin E (tokoferol dan tokotrienol) yang tinggi sehingga berpotensi sebagai sumber antioksidan tinggi. Dengan menambahkannya pada nasi, diharapkan nasi menjadi pangan fungsional dengan antioksidan tinggi sehingga memiliki banyak manfaat bagi kesehatan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kombinasi konsentrasi MSM dan cara penambahan MSM pada nasi terhadap aktivitas penghambatan radikal DPPH, ABTS, dan *meat system* (TBARS). Penelitian ini disusun dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) non faktorial dengan tiga kali ulangan dan 8 kombinasi perlakuan yaitu C1P1, C2P1, C3P1, C4P1, C1P2, C2P2, C3P2, dan C4P2. C merupakan perlakuan konsentrasi MSM (C1: 1%, C2: 2%, C3: 3%, C4: 4%) dan P merupakan cara penambahan MSM (P1: sebelum pemasakan dan P2: sesudah pemasakan). Data aktivitas penghambatan radikal metode DPPH, ABTS, dan *meat system* (TBARS) dilakukan analisis sidik ragam untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh kombinasi perlakuan yang kemudian diolah lebih lanjut dengan uji DMRT 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi konsentrasi MSM dan cara penambahan MSM pada nasi berpengaruh nyata terhadap aktivitas penghambatan radikal DPPH, ABTS namun tidak berpengaruh nyata terhadap aktivitas penghambatan radikal dengan metode *meat system* (TBARS). Aktivitas penghambatan radikal oleh nasi yang ditambahkan MSM metode DPPH berkisar 3,73%-10,41%, metode ABTS berkisar 4,13%-13,5%, dan metode *meat system* (TBARS) berkisar 21% - 34%.

Kata kunci: Antioksidan, ABTS, DPPH, *meat system* (TBARS), minyak sawit merah, nasi putih

**PENGARUH KOMBINASI KONSENTRASI DAN CARA PENAMBAHAN  
MINYAK SAWIT MERAH TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN  
NASI**

**Oleh**

**Andini Fadhilah Sari**

**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  
2023**

Judul Skripsi : **PENGARUH KOMBINASI KONSENTRASI  
DAN CARA PENAMBAHAN MINYAK  
SAWIT MERAH TERHADAP AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN NASI**

Nama Mahasiswa : *Andini Fadhillah Sari*

Nomor Pokok Mahasiswa : 1914051034

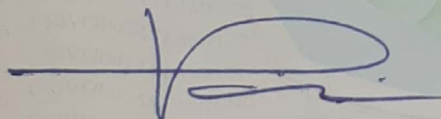
Program Studi : Teknologi Hasil Pertanian

Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian

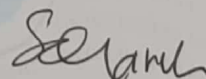
Fakultas : Pertanian

**MENYETUJUI**

1. Komisi Pembimbing

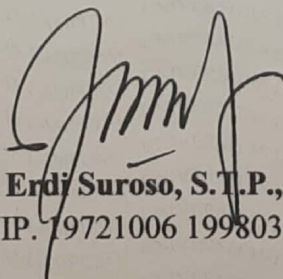


**Dr. Ir. Samsu Udayana Nurdin, M. Si.**  
NIP. 19670615 199403 1 003



**Dr. Ir. Siti Nurdjanah, M. Sc.**  
NIP. 19620720 198603 2 001

2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian

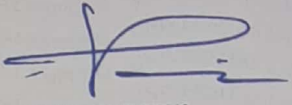


**Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A.**  
NIP. 19721006 199803 1 005

**MENGESAHKAN**

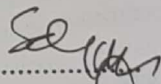
1. Tim Penguji

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



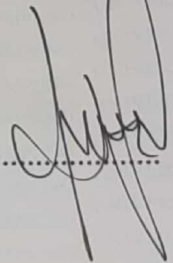
.....

Sekretaris : **Dr. Ir. Siti Nurdjanah, M. Sc.**



.....

Penguji  
Bukan Pembimbing : **Apt. Ramadhan Triyandi, S. Farm., M. Si.** .....



2. Dekan Fakultas Pertanian



**Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M. Si.**

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **15 Mei 2023**

## PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Andini Fadhilah Sari

NPM : 1914051034

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, 12 Juni 2023

Pembuat Pernyataan



Andini Fadhilah Sari

NPM.1914051034

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 25 Agustus 2001. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Adimas Widjonarko dan Ibu Yuni Aryanti. Penulis menyelesaikan Pendidikan di SD Negeri 2 Sawah Lama pada tahun 2013, Madrasah Tsanawiyah Negeri 2 Bandar Lampung pada tahun 2016, Madrasah Aliyah Negeri 1 Bandar Lampung pada tahun 2019. Pada tahun 2019, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung melalui jalur tes tertulis atau Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) dan Alhamdulillah selesai pada tahun 2023.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kelurahan Rajabasa Nunyai, Kecamatan Rajabasa, Kota Bandar Lampung, Provinsi Lampung pada bulan Januari – Februari 2022. Penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di PT. Salama Nusantara di Kota Wates, Kulon Progo, Yogyakarta pada bulan Juni – Juli 2022. Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif dalam kegiatan kemahasiswaan diantaranya menjadi anggota *intern* di UKM English Society Universitas Lampung periode 2021, serta menjadi anggota Departemen Riset dan Penalaran periode 2021 hingga menjadi Sekretaris Departemen Riset dan Penalaran periode 2022 di UKM Penelitian Universitas Lampung. Selama masa perkuliahan, penulis juga kerap aktif mengikuti LKTIN (Lomba Karya Tulis Ilmiah Nasional) dan program pendanaan PMW Unila dan pada tahun 2021 penulis berhasil mendapat pendanaan PMW untuk produk minuman fungsional.



## SANWACANA

Puji syukur *Alhamdulillah* penulis ucapkan kepada Allah SWT yang telah memberikan nikmat, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis diberikan kelancaran dan kemudahan untuk menjalankan perkuliahan, penelitian dan mengerjakan penulisan naskah skripsi yang berjudul **“Pengaruh Kombinasi Konsentrasi dan Cara Penambahan Minyak Sawit Merah terhadap Aktivitas Antioksidan Nasi”** hingga selesai. Selama pelaksanaan penelitian dan proses penulisan skripsi, banyak pihak yang telah 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, alat, dan tempat penelitian, arahan, saran, dan motivasi yang diberikan selama proses penelitian dan penyelesaian skripsi penulis
4. Ibu Dr. Ir. Siti Nurdjanah, M.Sc., selaku anggota komisi pembimbing atas bimbingan, arahan, saran, dan motivasi yang diberikan selama proses penelitian dan penyelesaian skripsi penulis
5. Bapak Apt. Ramadhan Triyandi S.Farm., M.Si., selaku pembahas atas masukan dan saran yang diberikan selama proses penelitian dan penyelesaian skripsi penulis
6. Bapak dan Ibu dosen pengajar atas ilmu yang diberikan selama perkuliahan di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian

7. Keluarga tersayang: Ibu dan Bapak yang telah mendidik, memberikan doa, semangat, motivasi, hiburan, dan selalu menyertai penulis, serta kepada Dian selaku adik penulis yang telah memberikan dukungan, hiburan dan candaan selama ini
8. Sahabat-sahabatku di THP (Vika, Leona, Renita, Dewi, Iga, Nida) serta sahabatku di luar THP (Luthfi, Rahmadiyah, Ayu, Siska), terima kasih atas bantuan, dukungan, semangat, motivasi, canda tawa, dan kasih sayang yang telah diberikan kepada penulis selama perkuliahan hingga penyelesaian skripsi
9. Teman satu penelitian dan perbimbingan (Aura, Ines, Duwinda, Amrizal, Diana, Depri), yang telah memberikan segala bantuan, dukungan, semangat, dan canda tawa selama proses penelitian dan penyusunan skripsi penulis, serta Mba Resti yang telah mengajarkan penulis selama proses penelitian di laboratorium
10. Teman-teman THP B 2019 serta teman-teman dan adik-adik di UKM Penelitian yang telah memberikan dukungan dan semangat kepada penulis
11. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung penulis selama menjalani proses perkuliahan hingga penyelesaian skripsi

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

Bandar Lampung, 12 Juni 2023  
Penulis

**Andini Fadhilah Sari**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xv</b>
<b>I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Kerangka Pemikiran .....	3
1.4 Hipotesis.....	6
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>7</b>
2.1 Antioksidan .....	7
2.2 Minyak Sawit Merah.....	8
2.3 Nasi Putih .....	11
2.4 Metode Pengujian Antioksidan .....	12
2.4.1 Metode DPPH.....	13
2.4.2 Metode ABTS.....	14
2.4.3 Metode TBARS ( <i>Meat System</i> ).....	15
<b>III. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>17</b>
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	17
3.2 Bahan dan Alat.....	17
3.3 Metode Penelitian.....	17
3.4 Pelaksanaan Penelitian .....	18
3.4.1 Pembuatan Tepung Nasi dengan Penambahan Minyak Sawit Merah Sebelum Masak.....	19

3.4.2 Pembuatan Tepung Nasi dengan Penambahan Minyak Sawit Merah Sesudah Masak .....	21
3.5 Pengamatan .....	22
3.5.1 Aktivitas Penghambatan Radikal DPPH .....	23
3.5.2 Aktivitas Penghambatan Radikal ABTS .....	23
3.5.3 Aktivitas Penghambatan Radikal Metode <i>Meat System</i> (TBARS) .....	24
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>26</b>
4.1 Aktivitas Penghambatan Radikal DPPH .....	26
4.2 Aktivitas Penghambatan Radikal ABTS .....	29
4.3 Aktivitas Penghambatan Radikal Metode <i>Meat System</i> (TBARS).....	33
<b>V. KESIMPULAN .....</b>	<b>38</b>
5.1 Kesimpulan.....	38
5.2 Saran.....	38
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>39</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>47</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan senyawa fitokimia minyak sawit merah .....	10
2. Hasil uji lanjut DMRT 5% aktivitas penghambatan radikal DPPH oleh nasi yang ditambahkan MSM .....	26
3. Hasil uji lanjut DMRT 5% aktivitas penghambatan radikal ABTS oleh nasi yang ditambahkan MSM .....	30
4. Hasil uji lanjut DMRT 5% aktivitas penghambatan radikal metode (TBARS) oleh nasi yang ditambahkan MSM .....	34
5. Nilai absorbansi aktivitas penghambatan DPPH nasi yang ditambahkan MSM .....	48
6. Aktivitas penghambatan DPPH (%) nasi yang ditambahkan MSM.....	48
7. Uji kehomogenan ragam ( <i>Barlet test</i> ) aktivitas penghambatan DPPH nasi yang ditambahkan MSM.....	49
8. Analisis sidik ragam aktivitas penghambatan DPPH nasi yang ditambahkan MSM .....	49
9. Uji lanjut DMRT aktivitas penghambatan DPPH nasi yang ditambahkan MSM .....	50
10. Nilai absorbansi aktivitas penghambatan ABTS nasi yang ditambahkan MSM.....	50
11. Aktivitas penghambatan ABTS (%) nasi yang ditambahkan MSM .....	51
12. Uji kehomogenan ragam ( <i>Barlet test</i> ) aktivitas penghambatan ABTS nasi yang ditambahkan MSM .....	51
13. Analisis sidik ragam aktivitas penghambatan ABTS nasi yang ditambahkan MSM.....	52

14. Uji lanjut DMRT aktivitas penghambatan ABTS nasi yang ditambahkan MSM.....	52
15. Nilai absorbansi aktivitas penghambatan radikal metode <i>meat system</i> (TBARS) nasi yang ditambahkan MSM .....	53
16. Aktivitas penghambatan radikal metode <i>meat system</i> (TBARS) (%) nasi yang ditambahkan MSM.....	53
17. Uji kehomogenan ragam ( <i>Barlet test</i> ) aktivitas penghambatan radikal <i>meat system</i> (TBARS) nasi yang ditambahkan MSM .....	54
18. Analisis sidik ragam aktivitas penghambatan radikal metode <i>meat system</i> (TBARS) nasi yang ditambahkan MSM .....	54
19. Uji lanjut DMRT aktivitas penghambatan radikal metode <i>meat system</i> (TBARS) nasi yang ditambahkan MSM .....	55

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Minyak sawit merah (MSM).....	9
2. Nasi putih.....	12
3. Alur pelaksanaan penelitian.....	19
4. Proses pembuatan tepung nasi dengan penambahan minyak sawit merah sebelum masak.....	20
5. Proses pembuatan tepung nasi dengan penambahan minyak sawit merah sesudah masak.....	22
6. Penimbangan beras.....	55
7. Penirisan beras setelah proses pencucian.....	55
8. Pemasakan beras.....	55
9. Pengadukan beras yang sudah matang.....	55
10. Nasi yang telah dikeringkan dalam oven.....	56
11. Analisis aktivitas penghambatan DPPH.....	56
12. Analisis aktivitas penghambatan ABTS.....	57
13. Analisis aktivitas penghambatan radikal metode <i>meat system</i> (TBARS).....	57

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Beras merupakan salah satu bahan makanan pokok sebagian masyarakat Indonesia. Beras putih sebesar 100 gram memiliki kandungan total flavonoid 166,23 mg R.E. (*Retinol Equivalent*) dan total fenol 24,26 mg GAE (*Gallic Acid Equivalent*) (Raghuvanshi *et al.*, 2017). Proses pemanasan pada pemasakan beras menjadi nasi dapat menurunkan kandungan senyawa bioaktif pada beras (Chmiel *et al.*, 2017; Zaupa *et al.*, 2015). Hal tersebut mendorong para peneliti melakukan penelitian terkait fortifikasi beras dengan bahan yang mengandung senyawa bioaktif yang tinggi guna meningkatkan kualitas nasi. Beberapa penelitian melakukan fortifikasi pada beras menggunakan bahan yang mengandung senyawa bioaktif seperti daun sorgum, kunyit, kayu manis, daun pegagan (Appea-Bah *et al.*, 2021; Nurdin dkk., 2018; Hidayati dkk., 2016). Berdasarkan hal tersebut, nasi dapat menjadi *carrier* atau pembawa senyawa bioaktif yang dapat meningkatkan kualitas kesehatan nasi. Ini artinya penambahan bahan yang mengandung senyawa bioaktif tinggi pada beras dapat menjadi pendekatan inovatif untuk memberikan alternatif hidangan berbasis nasi sehat kepada konsumen.

Antioksidan memiliki banyak manfaat bagi kesehatan sehingga dapat dibawa oleh nasi dengan proses penambahan senyawa bioaktif yang bersifat antioksidan pada nasi. Appea-Bah *et al.* (2021) melakukan penelitian penambahan *bio colorant* berbasis daun sorgum pada nasi untuk meningkatkan antioksidan nasi, dan menghasilkan nasi dengan aktivitas antioksidan 6 kali lipat dan kandungan fenolik 9 kali lipat lebih tinggi dibanding nasi putih tanpa penambahan. Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat memperlambat serta mencegah proses oksidasi. Kemampuannya tersebut diduga dapat mencegah berbagai gangguan



metabolik seperti hiperglikemia, obesitas, intoksikasi hati, penuaan, karsinogenesis, kardiovaskular (CVD), dan lainnya (Gasmi *et al.*, 2022). Kemampuan antioksidan dalam menangkal radikal bebas menjadikan antioksidan sebagai senyawa yang perlu disuplai melalui makanan atau minuman untuk meningkatkan kesehatan masyarakat.

Minyak sawit merah (MSM) atau *Red Palm Oil* (RPO) dapat berpotensi menjadi bahan fortifikan karena mengandung antioksidan yang tinggi. MSM merupakan minyak sawit yang diproses secara minimal sehingga masih mengandung zat warna karotenoid yang cukup tinggi. Proses produksi MSM sama dengan proses produksi minyak goreng sawit hanya saja tidak terdapat proses *bleaching* sehingga warna merah pada minyak dapat dipertahankan (Robiyansyah dkk., 2017). Karotenoid adalah salah satu senyawa utama yang tertahan setelah proses pemurnian khusus dan yang membentuk warna merah pada MSM. Karotenoid dalam minyak sawit memiliki banyak manfaat kesehatan bagi tubuh seperti mengatasi defisiensi vitamin A, menurunkan kolestrol, mengurangi risiko kanker, dan sebagai sumber antioksidan yang tinggi (Tan *et al.*, 2021). Kandungan karotenoid pada minyak sawit merah berkisar 500-750 ppm, sedangkan kandungan tokoferolnya berkisar 600-1000 ppm (Tan *et al.*, 2021). Aktivitas antioksidan MSM 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, dan 8 ppm berturut-turut adalah 22%, 41%, 59%, dan 67% (Sinaga dkk., 2018). Karena berpotensi sebagai sumber antioksidan yang tinggi, maka minyak sawit merah diduga dapat dicampurkan dengan nasi dengan tujuan meningkatkan antioksidan nasi.

Proses pemasanan pada minyak sawit merah dapat mempengaruhi kandungan  $\beta$ -karotennya sehingga diduga dapat menurunkan aktivitas antioksidannya. Pola perubahan  $\beta$ -Karoten selama pemanasan telah banyak diteliti. Penelitian Budiyanto dkk. (2010) menunjukkan bahwa pemanasan pada suhu 150°C, 160°C, 170°C, dan 180°C selama 5 jam mempengaruhi kandungan  $\beta$ -karoten MSM dan pemanasan pada suhu 150°C mampu mempertahankan kandungan  $\beta$ -Karoten lebih baik daripada suhu yang lebih tinggi (suhu  $\geq 160^\circ\text{C}$ ). Suhu pemanasan pada *rice cooker* adalah sebesar 70 – 85°C dan semakin lama waktu pemanasan, suhu akan meningkat hingga 85°C (Mahardika, 2011) sehingga diduga proses pemasakan

nasi yang ditambah MSM tidak dapat menurunkan kandungan karotenoid atau aktivitas antioksidannya secara signifikan. Namun penelitian Appea-Bah *et al.* (2021) melaporkan pengaruh yang signifikan dari proses pemasakan nasi yang ditambahkan daun sorgum terhadap kandungan senyawa fenol dan aktivitas antioksidannya. Oleh karena itu, cara penambahan MSM pada nasi sebelum dan sesudah pemasakan tetap dilakukan pada penelitian ini untuk mengkaji pengaruhnya terhadap aktivitas penghambatan radikal yang dihasilkan.

## 1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh kombinasi konsentrasi MSM dan cara penambahan MSM pada nasi terhadap aktivitas penghambatan radikal metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*), ABTS (*2,2'-azinobis(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonic acid)*) dan *meat system* (TBARS (*Thiobarbituric Acid Reactive Substance*))

## 1.3 Kerangka Pemikiran

Beras putih 100 g mengandung karbohidrat sebesar 78,34 g, protein 7,6 g, lemak 0,62 g, air 12,75 g, serta total flavonoid sebesar 166,23 mg R.E. dan total fenol 24,26 mg GAE (Raghuvanshi *et al.*, 2017). Proses pascapanen seperti penggilingan dan penyimpanan berpengaruh terhadap kandungan beras. Proses pemasakan beras menjadi nasi juga menyebabkan perubahan sifat fisik, komposisi kimia, dan struktur pati (Florentina dkk., 2016). Proses tersebut menyebabkan kandungan senyawa bioaktif yang terkandung di dalam beras menjadi menurun. Hal tersebut mendorong para peneliti melakukan fortifikasi atau penambahan bahan yang dikehendaki kandungannya, seperti senyawa antioksidan. Beberapa peneliti melakukan fortifikasi menggunakan bahan yang diduga kaya antioksidan seperti daun sorgum, kunyit, kayu manis, daun pegagan, dan lainnya (Appea-Bah *et al.*, 2021; Nurdin dkk., 2018; Hidayati dkk., 2016). Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses penambahan bahan-bahan tersebut dapat meningkatkan aktivitas antioksidan nasi. Pemilihan fortifikan yang lebih

berpotensi dan memiliki senyawa bioaktif yang tinggi masih perlu dieksplor lagi untuk mendapatkan aktivitas antioksidan nasi yang lebih tinggi.

Minyak sawit merah mengandung karotenoid dan vitamin E yang tinggi.

Karotenoid merupakan senyawa utama yang tertahan dalam minyak sawit merah.

Sekitar 80% karotenoid yang tertahan ditemukan terdiri dari 0,2% fitoena, 0,6% fitofluena, 41,3%  $\alpha$ -karoten, 10,2% *cis*- $\alpha$ -karoten, 41,0%  $\beta$ -karoten, *cis*- $\beta$ -karoten, 0,6%  $\zeta$ -karoten, 0,8%  $\gamma$ -karoten, 0,8%  $\delta$ -karoten, 0,2% neurosporen, 0,5%  $\alpha$ -zeakaroten, 1,3%  $\beta$ -zeakaroten dan 1,0% likopen (Loganathan *et al.*, 2017).

Kandungan karotenoid pada minyak sawit merah berkisar 500-750 ppm.

Selain karotenoid, tokoferol dan tokotrienol juga berkontribusi terhadap stabilitas oksidatif minyak sawit merah. Sekitar 85% tokoferol dan tokotrienol

dipertahankan setelah proses pemurnian, berkisar antara 600-1000 ppm. Selain itu

juga minyak sawit merah mengandung beberapa fitokimia dalam jumlah kecil seperti pitosterol (325-365 ppm), ubiquinon (18-25 ppm), koenzim Q10 (18-25 ppm), dan squalene (14-25 ppm) (Tan *et al.*, 2021).

Kandungan karoten dan tokoferol yang tinggi menjadikan minyak sawit merah berpotensi sebagai sumber

antioksidan dalam produk pangan. Hal tersebut dibuktikan oleh penelitian Sinaga dkk. (2018) dimana aktivitas antioksidan MSM dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm,

6 ppm, dan 8 ppm berturut-turut adalah 22%, 41%, 59%, dan 67% lebih tinggi dibandingkan konsentrat karoten dengan aktivitas penghambatan sebesar 9%,

17%, 30%, 35%. Penambahan minyak sawit merah pada nasi diduga dapat meningkatkan antioksidan nasi.

Penambahan minyak sawit merah pada nasi belum banyak dikaji. Namun

penggunaan minyak sawit merah sebagai bahan tambahan bagi produk makanan

lain sudah banyak dilakukan guna meningkatkan antioksidan produk seperti

minyak makan, margarin, coklat, sereal, *snack*, *ice cream*, *cake*, dan lainnya (Tan *et al.*, 2021).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kumar *et al.* (2016),

campuran MSM dengan persentase paling besar pada lemak mentega (50:50) pada

pembuatan selai coklat menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi

dengan nilai  $IC_{50}$  yang rendah. Formula dengan persentase MSM paling kecil,

dengan persentase lemak mentega paling tinggi menghasilkan aktivitas

antioksidan yang rendah dan nilai IC<sub>50</sub> yang tinggi yaitu sebesar 70,6 mg/ml. Penelitian oleh El-Hadad *et al.* (2010) menghasilkan biskuit dengan penambahan 60% MSM dan 40% mentega putih dengan kandungan tokoferol dan tokotrienol 1,8 kali, dan karoten 10,4-14,8 kali lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (tanpa penambahan MSM). Berdasarkan hasil penelitian-penelitian tersebut, penambahan MSM yang semakin tinggi pada suatu produk dapat meningkatkan kandungan senyawa bioaktif serta aktivitas antioksidan pada produk tersebut.

Penambahan MSM pada nasi diduga berpotensi meningkatkan aktivitas antioksidan nasi. Namun proses pemasakan nasi perlu diperhatikan, karena proses tersebut diduga menyebabkan penurunan kandungan di dalam nasi sehingga faktor waktu dan suhu memasak perlu diperhatikan (Francassetti *et al.*, 2020). Telah banyak penelitian yang melakukan kajian pengaruh pemasakan terhadap antioksidan nasi. Beberapa diantaranya adalah penelitian Chmiel *et al.* (2017), (Francassetti *et al.*, 2020), dan Appea-Bah *et al.* (2021) yang menghasilkan proses pemanasan serta metode pemasakan nasi menurunkan kandungan antioksidannya. Proses pemanasan juga dapat menurunkan kadar  $\beta$ -Karoten sehingga menurunkan aktivitas antioksidan dalam produk. Pola perubahan  $\beta$ -Karoten selama pemanasan telah banyak dilakukan penelitian. Budiyanto dkk. (2010) telah melakukan penelitian terhadap perubahan kandungan  $\beta$ -Karoten minyak sawit merah selama pemanasan pada suhu 150°C, 160°C, 170°C, dan 180°C selama 5 jam dan hasilnya menunjukkan bahwa pemanasan pada suhu 150°C mampu mempertahankan kandungan  $\beta$ -Karoten lebih baik daripada suhu yang lebih tinggi.

Proses pemanasan pada minyak sawit merah diduga berpengaruh terhadap kadar antioksidannya. Penambahan minyak sawit merah pada nasi sebelum nasi masak dan sesudah nasi masak akan menghasilkan aktivitas antioksidan yang berbeda. Penambahan minyak sawit merah sebelum masak pada nasi akan membuat minyak sawit merah yang ditambahkan melewati proses pemanasan, sedangkan minyak sawit merah yang ditambahkan setelah nasi masak tidak melewati proses pemanasan. Selain cara penambahan, konsentrasi minyak sawit merah yang ditambahkan juga mempengaruhi aktivitas antioksidan pada nasi. Untuk menghasilkan nasi dengan aktivitas antioksidan yang tinggi perlu diperhatikan

konsentrasi minyak sawit merah serta cara penambahannya. Maka dari itu perlu dilakukan penelitian untuk menghasilkan nasi dengan aktivitas antioksidan yang tinggi. Penelitian dilakukan dengan menambahkan minyak sawit merah dengan berbagai konsentrasi dengan cara penambahan yang berbeda sehingga dapat diketahui konsentrasi minyak sawit merah yang optimal dan cara penambahan yang tepat dalam menghasilkan nasi dengan aktivitas antioksidan yang tinggi.

#### **1.4 Hipotesis**

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah terdapat pengaruh kombinasi konsentrasi MSM dan cara penambahan MSM pada nasi terhadap aktivitas penghambatan radikal metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*), ABTS (*2,2'-azinobis-(3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonic acid)*) dan *meat system* (TBARS (*Thiobarbituric Acid Reactive Substance*))

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Antioksidan

Antioksidan merupakan molekul yang mampu menangkal dan memperlambat reaksi oksidasi zat yang dapat membentuk radikal bebas. Radikal bebas adalah suatu molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan sehingga membuatnya menjadi tidak stabil dan reaktif. Radikal bebas berusaha untuk berikatan dengan molekul lain, atom atau bahkan elektron individu untuk membuat senyawanya stabil (Martemucci *et al.*, 2022). Radikal bebas menyebabkan stres oksidatif ketika jumlahnya terlalu banyak di dalam tubuh, sehingga dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada tingkat sel, jaringan dan organ, yang mempercepat penuaan dan perkembangan penyakit (Euis, 2018). Sumber radikal bebas berasal dari dalam (endogen) seperti sel, enzim, rantai mitokondria, oksidasi retikulum endoplasma, sitokrom P450, dan penyakit, serta dari luar (eksogen) seperti polusi air dan udara, rokok tembakau, logam berat, pestisida, suhu tinggi, iradiasi UV, iradiasi gamma, narkoba, dan proses pemasakan. Radikal bebas dikaitkan dengan berbagai penyakit degeneratif seperti diabetes mellitus, arthritis rheumatoid, asma, katarak, kanker, penyakit neurodegeneratif, arterosklerosis, hipertensi, kardiovaskular (CVD) dan penuaan (Martemucci *et al.*, 2022).

Tubuh memiliki pertahanan antioksidan alami dalam melawan radikal bebas. Antioksidan menghambat proses oksidasi, bahkan pada konsentrasi yang relatif rendah, dan dapat melindungi sel dari kerusakan radikal bebas dengan menunda atau mencegah oksidasi protein, karbohidrat, lipid dan DNA (Sindhi *et al.*, 2013). Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi dua yaitu antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen dapat berasal dari enzim

seperti superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), glutathion peroksidase (GPx), dan glutathion reduktase (GRx), atau bahkan dari non enzim seperti antioksidan metabolic antara lain *lipoic acid*, glutathion, L-arginine, *uric acid*, dan bilirubin. Antioksidan eksogen tidak dapat diproduksi oleh tubuh dan harus diperoleh dari makanan yang mengandung vitamin E, vitamin C, Se, Cu, Zn, Mn, dan fitokimia seperti isoflavon, karotenoid, polifenol, dan flavonoid. Baik endogen dan eksogen, keduanya mampu menangkal radikal bebas secara efektif dengan memberikan elektronnya kepada ROS (*Reactive Oxygen Species*) sehingga mereka dapat menetralkan efek negatif radikal, mengurangi stress oksidatif, dan oksidasi molekul sel (Martemucci *et al.*, 2022).

Terdapat dua prinsip mekanisme antioksidan dalam menangkal radikal bebas. Pertama adalah mekanisme pemutusan rantai dimana antioksidan primer mendonorkan elektron ke radikal bebas yang ada di dalam sistem. Mekanisme kedua yaitu melibatkan penghilangan ROS (*Reactive Oxygen Species*) sehingga oleh antioksidan sekunder dengan pendinginan katalis pemicu rantai. Antioksidan dapat memberikan efeknya pada sistem biologis dengan mekanisme yang berbeda termasuk donasi elektron, pengkelatan ion logam, ko-antioksidan, atau dengan regulasi ekspresi gen (Lobo *et al.*, 2010). Untuk melindungi sel dan sistem organ tubuh terhadap spesies oksigen reaktif, manusia telah banyak mengembangkan berbagai sistem perlindungan antioksidan yang sangat canggih dan kompleks. Hal tersebut melibatkan berbagai komponen antioksidan, baik endogen dan eksogen, yang berfungsi secara interaktif dan sinergis untuk menetralkan radikal bebas. Meningkatkan asupan makanan antioksidan dapat membantu untuk mempertahankan status antioksidan yang memadai dan fungsi fisiologis yang normal pada manusia (Singh *et al.*, 2014)

## **2.2 Minyak Sawit Merah**

Minyak sawit merah atau *Red Palm Oil* (RPO) merupakan hasil pemurnian minyak sawit mentah atau *Crude Palm Oil* (CPO), yang mengandung karotenoid yang tinggi (Nagendran *et al.*, 2000). Minyak sawit merah didapatkan dengan proses pemurnian tanpa melalui proses dekolorisasi sehingga warna merah dapat

dipertahankan. Ada dua tahap pengolahan untuk pemurnian MSM dari CPO. Tahap pertama yaitu pre-treatment CPO, dengan menggunakan asam fosfat untuk *degumming* minyak dan treatment dengan *bleaching clay*. *Bleaching clay* akan hilang selama proses filtrasi. Tujuan utama dari pre-treatment adalah untuk menghilangkan pengotor dalam CPO sambil mempertahankan karoten. Tahapan proses selanjutnya adalah *deacidification* dan *deodorization*. Minyak yang telah diolah sebelumnya dilewatkan melalui unit distilasi jalur pendek dengan suhu sekitar 150°C-170°C di bawah vakum untuk menghilangkan asam lemak bebas (FFA) tanpa merusak karoten (Tan *et al.*, 2021). Proses yang minimal tersebut membuat kandungan minyak sawit merah seperti tokoferol, tokotrienol, dan karotenoid dapat dipertahankan dalam jumlah yang tinggi (Robiyansyah dkk., 2017).



Gambar 1. Minyak sawit merah (MSM)

Minyak sawit merah memiliki banyak kandungan yang bermanfaat bagi kesehatan. Minyak sawit merah memiliki persentase asam lemak yang seimbang, yang terdiri dari 50% asam lemak jenuh, 40% asam lemak tak jenuh tunggal, dan 10% asam lemak tak jenuh ganda (Ayeloso *et al.*, 2012). Senyawa fitokimia utama yang terkandung dalam minyak sawit merah adalah karotenoid dan vitamin E. Komposisi vitamin E dalam MSM terdiri dari  $\alpha$ -tokoferol (19%),  $\alpha$ -tokotrienol (29%),  $\gamma$ -tokotrienol (41%),  $\delta$ -tokotrienol (10%), sedangkan komposisi karotenoid terdiri dari fiton (0.2%), fitofluen (0.6%),  $\beta$ -karoten (41.0%),  $\alpha$ -karoten (41.3%), *cis*- $\alpha$ -karoten (10.2%),  $\zeta$ -karoten (0.6%),  $\gamma$ -karoten (0.8%),  $\delta$ -karoten (0.8%), neurosporen (0.2%),  $\beta$ -zeakaroten (1.3%),  $\alpha$ -zeakaroten (0.5%), dan likopen (1.0%) (Loganathan *et al.*, 2017; Tay *et al.*, 2000). Selain karotenoid, fitokimia



lain seperti fitosterol, ubiquinon, koenzim Q10, squalene, dan polifenol juga tertahan dalam jumlah yang kecil (Cassiday, 2017). Kandungan senyawa fitokimia dalam minyak sawit merah pada beberapa penelitian disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan senyawa fitokimia minyak sawit merah

<b>Senyawa Fitokimia</b>	<b>Delisle (2017)</b>	<b>Cassiday (2017)</b>	<b>Nagendran et al. (2000)</b>	<b>Loganathan et al. (2017)</b>
Total karoten (ppm)	500-700	513	513	600-750
Total tokoferol dan tokotrienol (ppm)	600-1000	707	707	717-863
Fitosterol	65%	325-365 ppm	109-170 ppm	325-365 ppm
Ubiquinon (ppm)	-	-	-	18-25
Squalene (ppm)	-	-	-	14-15
Koenzim Q10 (ppm)	-	-	-	18-25

Senyawa fitokimia yang terkandung dalam minyak sawit merah seperti karotenoid dan vitamin E (tokoferol dan tokotrienol) dapat bertindak sebagai antioksidan (Dauqan *et al.*, 2012). Minyak sawit merah dilaporkan memiliki banyak manfaat bagi kesehatan tubuh seperti mengatasi defisiensi vitamin A, menurunkan kolestrol, mengurangi risiko kanker, dan tentunya sebagai sumber antioksidan yang tinggi. Karenanya, telah banyak aplikasi minyak sawit merah dalam produk makanan seperti sebagai minyak goreng, minyak saus, margarin, selai, sereal, *snack*, es krim, *salad dressing*, dan biskuit (Tan *et al.*, 2021). MSM sangat potensial digunakan sebagai bahan fungsional dengan sumber antioksidan tinggi dalam produk pangan. Salah satunya adalah sebagai campuran dalam nasi putih yang menjadi makanan pokok masyarakat Indonesia.

Proses pengolahan pada minyak sawit merah perlu diperhatikan agar tidak menurunkan aktivitas antioksidannya. Hal tersebut karena proses pengolahan, salah satunya pemanasan MSM dapat menurunkan kandungan  $\beta$ -karoten yang merupakan salah satu komponen terbesar dari MSM, sehingga akan mempengaruhi aktivitas antioksidannya. Penelitian Alyas *et al.* (2006)

melaporkan penurunan kandungan  $\beta$ -karoten pada pemanasan minyak sawit merah pada temperatur  $< 100^{\circ}\text{C}$  selama 120 menit tidak signifikan dan hanya mengalami penurunan sebesar 3% (suhu  $50^{\circ}\text{C}$ ) dan 6% (suhu  $100^{\circ}\text{C}$ ) tetapi kandungan  $\beta$ -karoten minyak sawit merah pada pemanasan  $200^{\circ}\text{C}$  berkurang sebesar 59%. Penurunan kandungan  $\beta$ -karoten MSM selama pemanasan tentunya akan mempengaruhi aktivitas antioksidannya karena kandungan  $\beta$ -karoten merupakan komponen utama pada MSM yang memiliki sifat antioksidan (Loganathan *et al.*, 2017; Dauqan *et al.*, 2012). Clevidence *et al.* (2000) menyatakan bahwa perlakuan panas akan meningkatkan perubahan bentuk  $\beta$ -karoten dari bentuk trans ke bentuk cis. Bentuk all trans  $\beta$ -karoten adalah bentuk yang optimal bagi  $\beta$ -karoten untuk dikonversi ke vitamin A, sedangkan bentuk cis aktivitasnya untuk diubah menjadi vitamin A sangat kecil. Selain  $\beta$ -karoten, vitamin E (tokoferol dan tokotrienol) yang merupakan salah satu kandungan utama MSM dapat dipengaruhi oleh pemanasan. Loganathan *et al.* (2020) melaporkan kestabilan tokoferol dan tokotrienol yang lebih baik dibandingkan  $\beta$ -karoten pada proses pemanasan di oven (suhu  $170^{\circ}\text{C}$ ) dan hasilnya tidak berpengaruh nyata hingga waktu pemanasan 30 menit dengan oven terhadap kandungan vitamin E MSM.

### 2.3 Nasi Putih

Nasi merupakan makanan pokok masyarakat Indonesia. Masyarakat Indonesia pada umumnya memiliki budaya makan nasi yang sangat kuat.. Nasi putih adalah beras putih yang telah ditanak. Nasi putih 100 gram mengandung energi 180 kkal, protein 3 g, lemak 0,3 g, karbohidrat 39,8 g, serat 0,2 g, abu 0,2 g, kalsium 25 mg, fosfor, 27 mg, besi 0,4 mg, natrium 1 mg, dan kalium 38 mg (Direktorat Jenderal Kesehatan Masyarakat, 2018). Oleh karena kandungan karbohidratnya yang tinggi, nasi dimanfaatkan sebagai makanan dengan sumber energi yang tinggi dan utama yang mudah diserap oleh tubuh dalam bentuk glukosa. Glukosa yang terbentuk akibat proses hidrolisis pati oleh enzim  $\alpha$ -amilase memiliki peran penting dalam menghasilkan energi (Novianti *et al.*, 2017).



Gambar 2. Nasi putih

Nasi berpotensi sebagai *carrier* atau pembawa senyawa fungsional yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh. Telah banyak penelitian yang melakukan penambahan bahan yang mengandung senyawa fungsional untuk tujuan tertentu seperti sebagai sumber antioksidan. Penelitian nasi dengan tujuan sebagai sumber antioksidan telah diteliti oleh Pranata dkk. (2021) dengan menambahkan bahan kayu secang pada beras yang dimasak. Hasil penelitian menunjukkan semakin tinggi secang yang ditambahkan, dihasilkan total fenolik dan aktivitas penghambatan radikal bebas yang semakin tinggi. Nurdin dkk. (2018) telah melakukan penambahan campuran kunyit dan kayu manis pada nasi yang dimasak. Hasil penambahan kunyit dan kayu manis tersebut pada nasi meningkatkan kadar total fenol dan aktivitas antioksidan yang dihasilkan lebih tinggi daripada nasi biasa. Hidayati dkk. (2016) juga melakukan penambahan ekstrak pegagan pada nasi yang dimasak. Hasil yang sama juga menunjukkan bahwa nasi dengan penambahan ekstrak pegagan menghasilkan total fenol dan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan nasi tanpa penambahan pegagan.

#### **2.4 Metode Pengujian Antioksidan**

Metode pengujian antioksidan telah banyak dikembangkan untuk mengetahui aktivitas atau sifat antioksidan suatu senyawa dan produk pangan. Pengujian antioksidan dapat dilakukan secara *in vivo* maupun *in vitro*. Namun hingga saat ini uji antioksidan secara *in vitro* lebih banyak dikembangkan dibandingkan *in vivo* karena pengujiannya membutuhkan waktu yang cukup lama. Beberapa

metode uji antioksidan in vitro yang umum digunakan adalah metode DPPH, ABTS, ORAC, FRAP, TRAP, dan DPPP (Mendonca *et al.*, 2022).

#### 2.4.1 Metode DPPH

Uji DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) adalah salah satu metode uji antioksidan yang sederhana dan hanya membutuhkan spektrofotometer Vis atau spektrometer resonansi paramagnetik elektronik (EPR). DPPH dianggap sebagai radikal bebas yang stabil yang berwarna ungu. Meskipun bukan radikal alami, tetapi mekanisme reaksi dengan antioksidan mirip dengan peroksil radikal ROO• (Benzie and Strain, 1999). Uji netralisasi DPPH didasarkan pada pendonoran elektron dari antioksidan untuk menetralkan radikal DPPH. Reaksi tersebut disertai dengan perubahan warna DPPH yang diukur pada 517 nm, dan perubahan warna bertindak sebagai indikator adanya aktivitas antioksidan (Munteanu and Apetrei, 2021).

Ketika suatu zat atau senyawa yang dapat mendonorkan hidrogen (antioksidan) dicampur dengan larutan DPPH, ia menghasilkan bentuk tereduksi dari DPPH dengan hilangnya warna ungu (Mendonca *et al.*, 2022). Perubahan warna DPPH bertindak sebagai indikator aktivitas antioksidan. Reaksi yang terjadi dinyatakan oleh Persamaan (1), di mana DPPH diwakili oleh Z\* dan molekul donor diwakili oleh AH, menghasilkan bentuk tereduksi ZH, dan A\* adalah radikal bebas yang dihasilkan pada langkah pertama. Kemudian radikal bebas akan mengalami reaksi lebih lanjut (Persamaan (2)), dan menghasilkan produk yang stabil, diwakili oleh RS-SR (Ionita, 2021). Sementara DPPH mampu menerima elektron atau radikal hidrogen untuk menjadi molekul diamagnetik yang stabil, DPPH dioksidasi dengan cara yang tidak mudah dan secara ireversibel.



Umumnya metode DPPH digunakan untuk menilai sifat antioksidan dalam gandum, dedak gandum, sayuran, asam linoleate, herbal, minyak biji, tepung (Mendonca *et al.*, 2022) serta ekstrak tumbuhan (Munteanu and Apetrei, 2021).

Dapat digunakan dalam sampel biologis dan sampel padat ataupun cair (Sirivibulkovit *et al.*, 2018). Metode ini dalam pengujian antioksidan merupakan metode yang cepat, sederhana, murah, dan banyak digunakan (Sirivibulkovit *et al.*, 2018). Oleh karena kemudahannya, penerapannya pada suhu kamar, serta biaya yang rendah, membuat para komunitas ilmiah masih menerapkan metode DPPH untuk optimalisasi/standarisasi untuk menghasilkan hasil yang signifikan dan sebanding (Munteanu and Apetrei, 2021). Namun metode ini memiliki keterbatasan utama yaitu spektrum beberapa senyawa bioaktif yang tumpang tindih dengan DPPH karena menyerap dalam rentang panjang gelombang yang sama, contohnya senyawa antosianin yang menyerap pada rentang panjang gelombang yang sama dengan DPPH (500-550 nm) (Shahidi and Zhong, 2015). Metode ini juga cenderung sensitif yang mana sensitivitasnya dapat dipengaruhi oleh sejumlah faktor, seperti jenis dan jumlah pelarut yang digunakan, keberadaan dan konsentrasi ion hidrogen dan logam, serta kesegaran reagen DPPH (Dawidowicz *et al.*, 2012; Kedare and Singh, 2011; Musa *et al.*, 2013).

#### **2.4.2 Metode ABTS**

Metode ABTS merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mengukur kemampuan antioksidan suatu senyawa. Senyawa sumber radikal yang digunakan pada metode ini yaitu *2,2'-azinobis-(3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonic acid)* yang direaksikan dengan oksidan  $K_2S_2O_8$  untuk menghasilkan kation ABTS (Gulcin, 2012). yang merupakan kation radikal stabil, berwarna biru-hijau dengan serapan maksimum pada 734 nm. Proses generasi ABTS oleh  $K_2S_2O_8$  menjadi kation ABTS membutuhkan waktu inkubasi hingga 16 jam dalam kondisi gelap untuk dapat digunakan dalam pengujian (Cano *et al.*, 1998). Prinsip pengujian aktivitas antioksidan metode ABTS dapat diukur berdasarkan penghilangan warna (*decolorization*) dari kation ABTS, yaitu mengukur absorbansi pengurangan radikal kation dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 734 nm sebagai persentase penghambatan (Mastuti, 2015).

Metode ABTS sering digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan dari bahan-bahan yang terkandung dalam makanan dan minuman. Hal itu karena ABTS yang

mudah larut pada fase air dan lipid sehingga memungkinkan penentuan kapasitas antioksidan dari senyawa hidrofilik dan lipofilik (Munteanu and Apetrei, 2021). Kelebihan dari metode ini adalah murah dan sederhana secara teknis, dapat digunakan dalam range pH yang lebar, mudah larut dalam buffer dan lingkungan organik sehingga dapat dikembangkan untuk menentukan antioksidan yang hidrofilik dan lipofilik (Zheng *et al.*, 2016; Cano *et al.*, 2002). Kelemahan metode ini adalah penggunaan kation radikal ABTS buatan tidak relevan dan tidak ditemukan dalam makanan atau sistem biologis (Schaich *et al.*, 2015), serta reaksi yang terjadi dalam pengujian ABTS tidak pasti karena sampel mungkin bereaksi dengan zat pengoksidasi, enzim, dan kation radikal sehingga diduga dapat menghasilkan nilai atau hasil uji yang berlebihan (Schlesier *et al.*, 2002).

#### **2.4.3 Metode TBARS (*Meat System*)**

Metode TBARS (*Thiobarbituric Acid Reactive Substance*) merupakan salah satu metode uji antioksidan yang umumnya digunakan untuk mengukur kadar malondialdehid (MDA) sebagai respon biologis dari stress oksidatif dan radikal bebas yang dihasilkan dari proses peroksidasi lipid (Zeb and Ullah, 2016). Pada umumnya metode ini dilakukan secara *in vivo* menggunakan hewan percobaan, namun pada penelitian ini digunakan daging sapi sebagai sistem biologisnya sehingga disebut juga metode *meat system*. Pengujian TBARS secara *in vitro* tidak hanya menggunakan daging sapi sebagai substratnya, beberapa penelitian menggunakan daging kerbau, daging babi, sosis, atau produk lain yang dapat digunakan sebagai substrat (Ghani *et al.*, 2017). Kadar MDA yang diukur merupakan indikator adanya stress oksidatif pada lemak tak jenuh (peroksidasi lipid) serta indikator adanya radikal bebas dalam spesimen biologis. MDA adalah senyawa yang berbentuk kristal putih dan bersifat higroskopis yang terbentuk dari proses hidrolisis asam 1,1,3,3 tetraethoxypropane (Khoiruddin, 2018). Konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan adanya proses oksidatif pada membran sel. Status antioksidan yang tinggi akan menurunkan kadar MDA (Winarsi, 2007).

Metode TBARS merupakan metode yang paling terkenal dan sering digunakan untuk menentukan oksidasi lipid pada produk daging dan ikan. Metode ini didasarkan pada reaksi TBA terhadap MDA yang membentuk larutan berwarna merah muda yang akan dibaca oleh spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm. Metode TBARS merupakan metode pengukuran MDA yang mudah, sederhana, biaya rendah, dapat direproduksi, serta memiliki hasil yang baik terhadap sifat sensorik dari produk akhir. Namun, TBA dapat bereaksi dengan senyawa teroksidasi lain dalam produk makanan dan menghasilkan hasil yang kurang akurat. Kelemahannya juga adalah metode ini tidak cocok digunakan untuk menentukan tingkat oksidasi pada bahan pangan yang mengandung karbohidrat tinggi dan kuning telur (Abeyrathne *et al.*, 2021).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Analisis Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, pada bulan Desember 2022 hingga Februari 2023.

#### 3.2 Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan yaitu beras varietas IR64 dan minyak sawit merah (Salmira). Bahan yang digunakan untuk antara lain etanol 96% PA, n-heksana PA MERCK, akuades, bubuk DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) smart lab, bubuk ABTS (*2,2-azinobis (3-etibenzotiazolin)-6-asam sulfonat*) sigma-aldrich,  $K_2S_2O_8$ ,  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $H_2O_2$  Merck, NaCl 0,85%, TCA (*Trichloro acid*), TBA (*Tiobarbiturat acid*), tween 80, aluminium foil, dan daging sapi.

Alat yang digunakan antara lain *rice cooker* (miyako), neraca analitik, Erlenmeyer, oven, mikropipet, pipet tip, gelas ukur, *beaker glass*, labu ukur, botol gelap tertutup, loyang, vortex (H-VM-400), tabung reaksi, sentrifuge (Plc Series), spektrofotometer UV-Vis (Inesa), *water bath* (H-WBE-8L), dan *orbital shaker* (Wincom KJ-201BD).

#### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) non faktorial dengan 3 kali ulangan. Terdapat 8 kombinasi perlakuan antara C (konsentrasi MSM) yang terdiri atas 4 taraf perlakuan dan



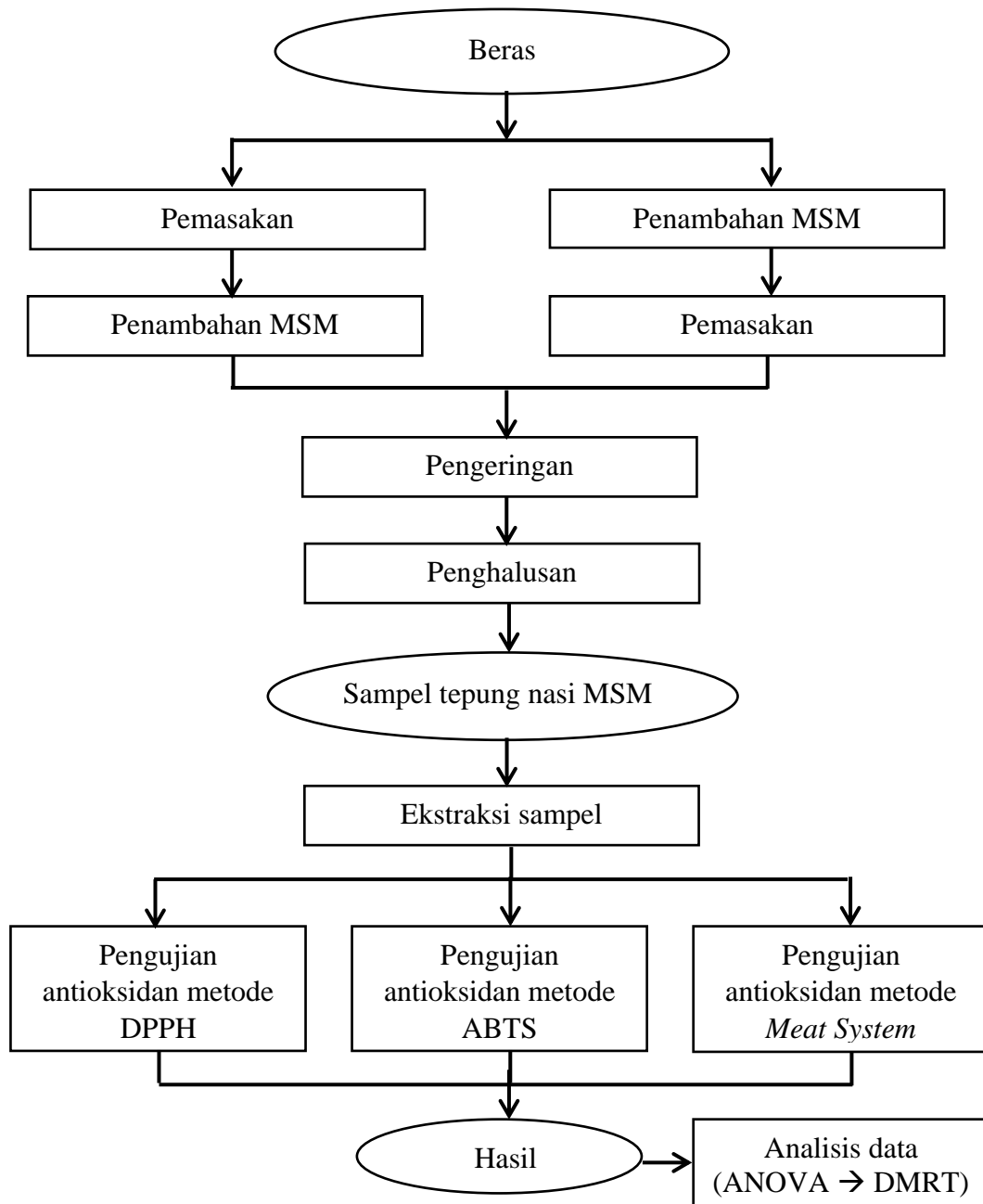
P (cara penambahan MSM) yang terdiri atas 2 taraf perlakuan. Kombinasi perlakuan yang didapat adalah sebagai berikut:

- C1P1 : Nasi dengan penambahan MSM 1% sebelum pemasakan
- C2P1 : Nasi dengan penambahan MSM 2% sebelum pemasakan
- C3P1 : Nasi dengan penambahan MSM 3% sebelum pemasakan
- C4P1 : Nasi dengan penambahan MSM 4% sebelum pemasakan
- C1P2 : Nasi dengan penambahan MSM 1% sesudah pemasakan
- C2P2 : Nasi dengan penambahan MSM 2% sesudah pemasakan
- C3P2 : Nasi dengan penambahan MSM 3% sesudah pemasakan
- C4P2 : Nasi dengan penambahan MSM 4% sesudah pemasakan

Terdapat C0 (nasi tanpa penambahan MSM) yang digunakan sebagai kontrol atau pembandingan. Data yang diperoleh diuji kehomogenan data dengan uji Barlett dan uji kemenambahan data dengan uji Tukey. Selanjutnya data diolah dengan ANOVA (*Analysis of varians*) untuk mengetahui pengaruh dari kombinasi perlakuan terhadap parameter. Analisis data dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf nyata 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Analisis statistik dilakukan menggunakan Microsoft Excel.

### **3.4 Pelaksanaan Penelitian**

Alur pelaksanaan penelitian ini disajikan pada diagram alir berikut:

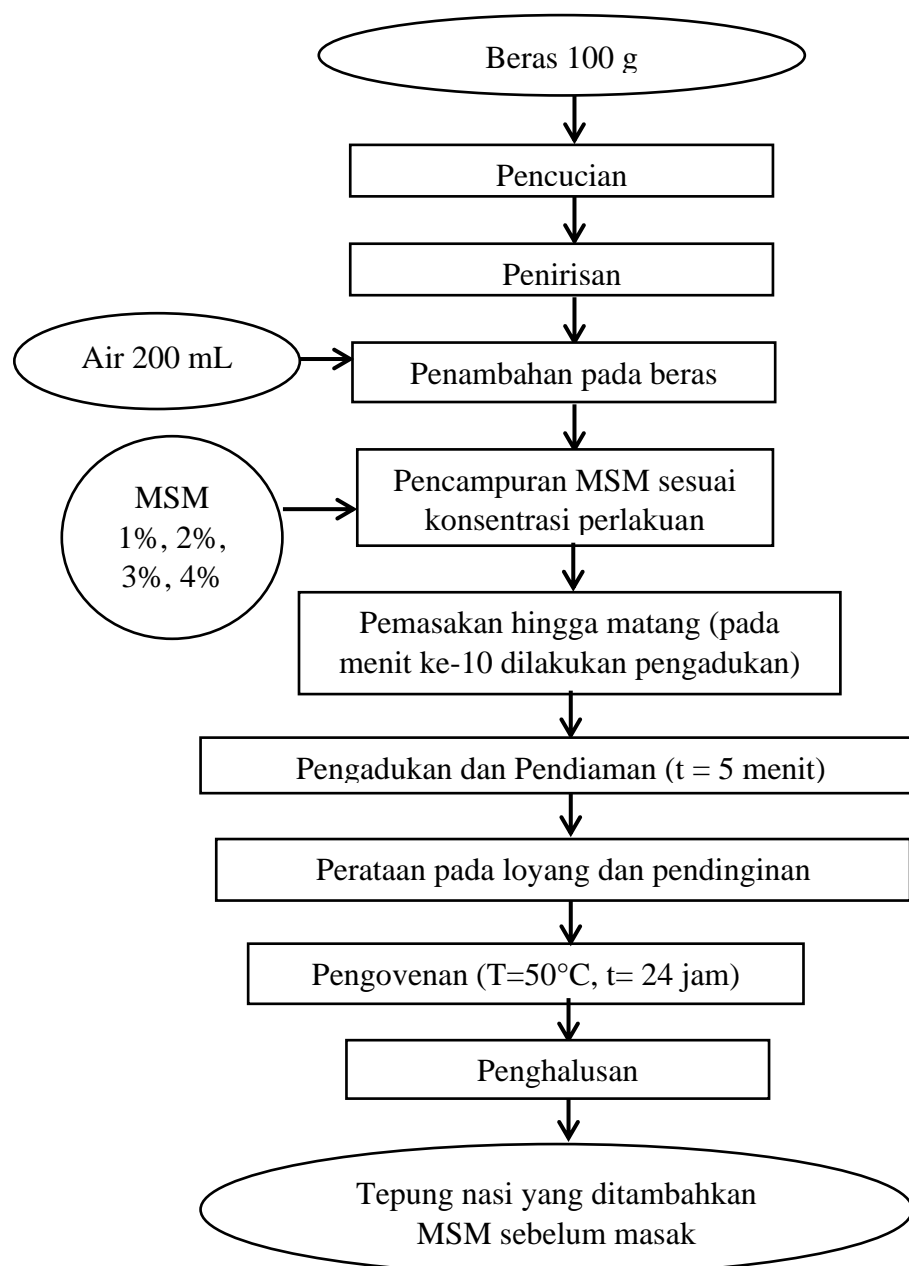


Gambar 3. Alur pelaksanaan penelitian

### 3.4.1 Pembuatan Tepung Nasi dengan Penambahan Minyak Sawit Merah Sebelum Masak

Beras putih varietas IR64 sebanyak 100 g dicuci bersih tiga kali dengan air mengalir, kemudian ditiriskan dan ditambahkan air sebanyak 200 mL. Lalu dilakukan penambahan MSM dengan konsentrasi yang berbeda masing-masing 1%, 2%, 3%, dan 4%. Kemudian diaduk hingga rata dan dimasak hingga 10 menit

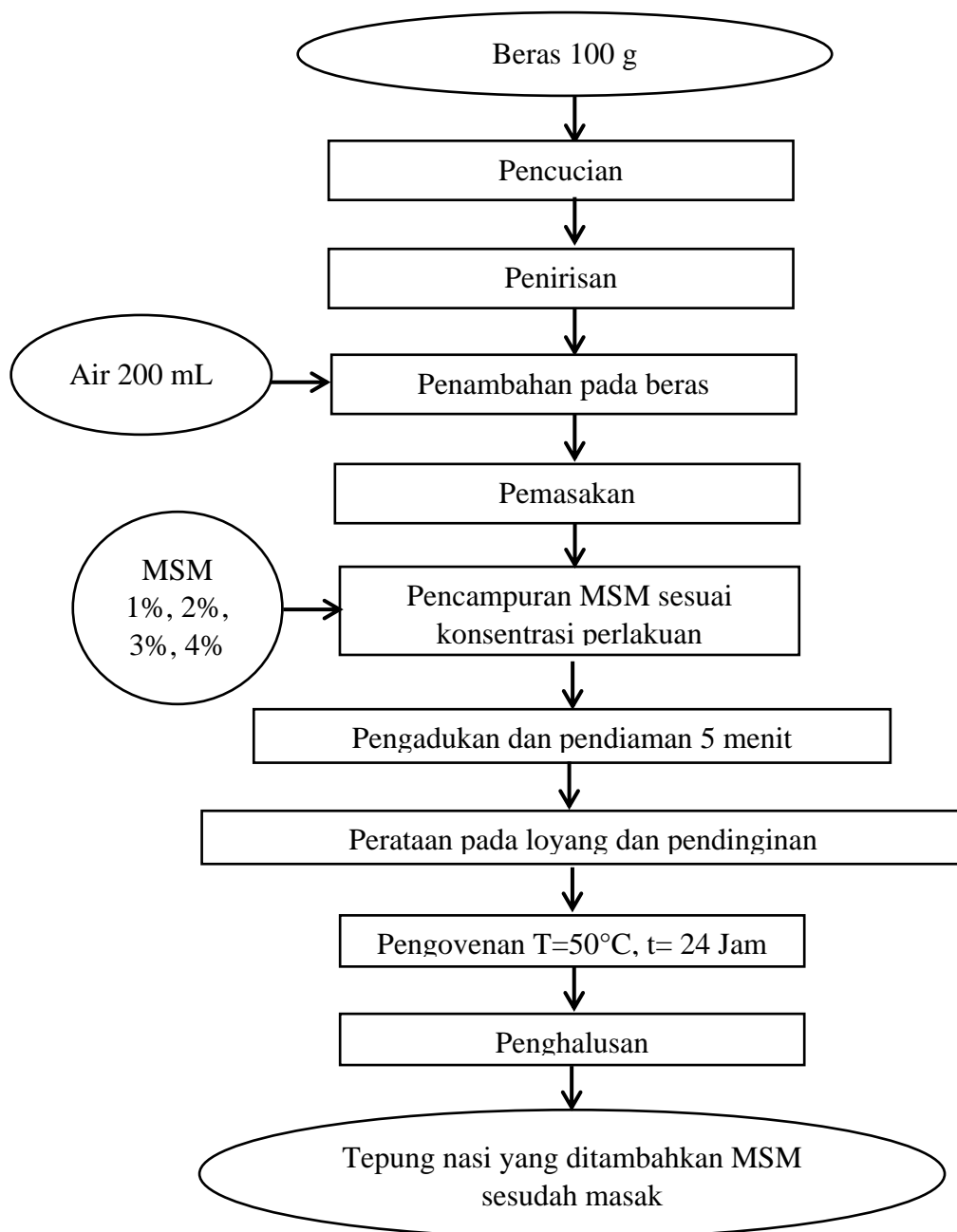
lalu dilakukan pengadukan dan dilanjutkan pemasakan hingga nasi matang. Setelah matang dilakukan pengadukan untuk meratakan MSM yang sudah ditambahkan sebelumnya dan dilakukan pendiaman selama 5 menit di dalam *rice cooker* dalam keadaan tertutup. Kemudian nasi diratakan pada loyang dan didiamkan hingga dingin. Setelah dingin, dilakukan pengovenan pada suhu 50°C selama 24 jam. Setelah nasi kering, dilakukan penghalusan dengan mesin grinder kemudian dilakukan penyaringan hingga mendapatkan tepung yang halus. Diagram alir proses pembuatan tepung nasi dengan penambahan minyak sawit merah sebelum masak dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Proses pembuatan tepung nasi dengan penambahan minyak sawit merah sebelum masak

### **3.4.2 Pembuatan Tepung Nasi dengan Penambahan Minyak Sawit Merah Sesudah Masak**

Beras putih varietas IR64 sebanyak 100 g dicuci bersih tiga kali dengan air mengalir, kemudian ditiriskan dan ditambahkan air sebanyak 200 mL, lalu dimasak hingga matang. Setelah matang, nasi ditambahkan MSM dengan konsentrasi yang berbeda masing-masing yaitu 1%, 2%, 3%, dan 4%, kemudian diaduk hingga rata dan dilakukan pendiaman selama 5 menit di dalam *rice cooker* dalam keadaan tertutup. Kemudian nasi diratakan pada loyang dan didiamkan hingga dingin. Setelah dingin, dilakukan pengovenan pada suhu 50°C selama 24 jam. Setelah nasi kering, dilakukan penghalusan dengan mesin grinder kemudian dilakukan penyaringan hingga mendapatkan tepung yang halus. Diagram alir proses pembuatan tepung nasi dengan penambahan minyak sawit merah setelah masak dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Proses pembuatan tepung nasi dengan penambahan minyak sawit merah sesudah masak

### 3.5 Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan pada penelitian ini meliputi aktivitas penghambatan radikal DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil*), aktivitas penghambatan radikal ABTS (*2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfona*), dan aktivitas penghambatan radikal metode *meat system* (TBARS).

### 3.5.1 Aktivitas Penghambatan Radikal DPPH

Analisis antioksidan dengan metode DPPH dilakukan dengan mengikuti metode yang telah dilakukan oleh Ismail dkk. (2012) dan Shimamura *et al.*, (2014). Analisis aktivitas antioksidan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) diawali dengan pembuatan larutan kontrol (blanko) DPPH. Larutan DPPH 0,2 mM (DPPH 0,2 mM dibuat dengan menimbang 0,0078 g bubuk DPPH dan dilarutkan dengan etanol sampai 100 mL) sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan etanol 3 mL. Lalu divortex hingga homogen selama 60 detik. Larutan kemudian diinkubasi dalam kondisi gelap di suhu ruang selama 30 menit. Setelah itu larutan blanko dimasukkan ke dalam kuvet untuk dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm dan hasil dibaca sebagai absorbansi blanko.

Sampel tepung ditimbang sebesar 1 gram kemudian ditambahkan n-heksana 2 mL dan dimaserasi selama 60 menit dengan *orbital shaker*. Larutan ekstrak kemudian diuji dengan dipipet sebanyak 100 µl dan ditambahkan dengan 1 mL larutan DPPH dan 3 mL etanol secara cepat dalam tabung tertutup yang sebelumnya telah dilapisi aluminium foil. Selanjutnya divortex selama 60 detik, dan diinkubasi selama 30 menit pada kondisi gelap di suhu ruang. Setelah itu larutan sampel dimasukkan ke dalam kuvet untuk dibaca absorbansinya pada spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm dan hasil dibaca sebagai absorbansi sampel. Data hasil absorbansi masing-masing sampel kemudian digunakan untuk mencari aktivitas penghambatannya. Rumus untuk mencari aktivitas penghambatan adalah sebagai berikut:

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

### 3.5.2 Aktivitas Penghambatan Radikal ABTS

Analisis antioksidan dengan metode ABTS dilakukan dengan mengikuti metode yang telah dilakukan oleh Rajurkar and Hande (2011). Analisis aktivitas

antioksidan metode ABTS (*2,2-azinobis (3-etibenzotiazolin)-6-asam sulfonat*) diawali dengan preparasi stok larutan ABTS. Kation radikal bebas ABTS disiapkan dengan mereaksikan larutan ABTS 7 mM dengan larutan  $K_2S_2O_8$  2,45 mM dengan perbandingan 1:1. Setelah dilakukan pencampuran, larutan diinkubasi pada suhu ruang dan kondisi gelap selama 16 jam. Kemudian larutan tersebut dilakukan pengenceran menggunakan etano untuk memperoleh absorbansi  $\pm 0,7$  pada panjang gelombang 734 nm.

Sampel tepung ditimbang sebesar 1 gram kemudian ditambahkan n-heksana 2 mL dan dimaserasi selama 60 menit dengan *orbital shaker*. Larutan ekstrak kemudian diuji dengan dipipet sebanyak 100  $\mu$ l dan ditambahkan dengan 2,9 mL larutan ABTS secara cepat dalam wadah tertutup yang sebelumnya telah dilapisi aluminium foil. Selanjutnya divortex selama 60 detik, dan diinkubasi selama 30 menit pada kondisi gelap di suhu ruang. Lalu dibaca absorbansinya pada spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 734 nm dan hasil dibaca sebagai absorbansi sampel. Larutan blanko dibuat dengan mencampurkan 100  $\mu$ l n-heksana 96% dan 2,9 mL ABTS secara cepat, lalu divortex selama 60 detik. Larutan kemudian diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap di suhu ruang, kemudian dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang 734 nm dan hasil dibaca sebagai absorbansi blanko. Data hasil absorbansi masing-masing sampel kemudian digunakan untuk mencari aktivitas penghambatannya. Rumus untuk mencari aktivitas penghambatan adalah sebagai berikut:

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

### 3.5.3 Aktivitas Penghambatan Radikal Metode *Meat System* (TBARS)

Uji ini dilakukan dengan mengikuti uji yang telah dilakukan oleh Amany *et al.* (2012). Uji dilakukan dengan menyiapkan daging sapi yang sudah dihaluskan dengan mortar serta larutan ekstrak tepung nasi masing-masing perlakuan. Ekstraksi sampel dilakukan dengan melarutkan 1 gram tepung nasi dengan pelarut n-heksana 2 mL yang kemudian dimaserasi selama 60 menit dengan *orbital*

*shaker*. Pengujian dimulai dengan mencampurkan 5 gram daging sapi halus dan 100  $\mu$ L larutan ekstrak tepung nasi sesuai perlakuan. Setelah tercampur, sampel ditambahkan dengan 5 mL akuades dan 100  $\mu$ L tween 80 (1%) lalu diaduk hingga tercampur rata. Kemudian campuran dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan dengan 0,1 mL  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (5 mM) dan 0,1 mL  $\text{H}_2\text{O}_2$  (100 mM) dan diaduk hingga rata. Setelah itu sampel diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruang.

Selanjutnya sampel yang telah diinkubasi, diambil sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke dalam tabung, kemudian ditambahkan 4 mL NaCl (0,85%) dan divortex selama 1 menit. Setelah itu ditambahkan TCA (*trichloro acid*) 7,5% sebanyak 1 mL dan divortex selama 1 menit. Campuran sampel kemudian disentrifugasi selama 5 menit. Setelah itu diambil supernatan sebanyak 3 mL, dan ditambahkan TBA (*thiobarbituric acid*) 0,67% sebanyak 1 mL dan divortex selama 1 menit. Sampel kemudian diinkubasi pada suhu 100°C selama 35 menit, kemudian didiamkan hingga dingin. Setelah itu sampel dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm dan hasil dibaca sebagai absorbansi sampel. Larutan blanko dibuat dengan melakukan metode yang sama tanpa menambahkan sampel tepung nasi, kemudian dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 32 nm dan hasil dibaca sebagai absorbansi blanko. Data hasil absorbansi masing-masing sampel kemudian digunakan untuk mencari aktivitas penghambatannya. Rumus untuk mencari aktivitas penghambatan adalah sebagai berikut:

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



## V. KESIMPULAN

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapatkan pada penelitian ini adalah kombinasi konsentrasi MSM dan cara penambahan MSM pada nasi berpengaruh nyata terhadap aktivitas penghambatan radikal DPPH, namun tidak berbeda nyata terhadap aktivitas penghambatan radikal dengan metode ABTS dan *meat system* (TBARS).

### 5.2 Saran

Perlu diperhatikan kembali metode uji antioksidan yang tepat untuk nasi dengan penambahan MSM menimbang adanya MSM yang mengandung karotenoid dan vitamin E tinggi yang merupakan senyawa non polar atau lipofilik. Selain itu pemilihan pelarut dan metode ekstraksi sampel juga penting untuk dipertimbangkan agar dapat mengekstrak senyawa dalam sampel secara maksimal sehingga dapat merepresentasi aktivitas atau sifat antioksidan yang terdapat pada produk tersebut dengan tepat. Oleh karena itu, perlu dilakukan uji antioksidan kembali dengan metode ekstraksi dan pelarut yang lebih tepat agar mendapatkan hasil yang lebih konsisten dan representatif. Metode ekstraksi yang dapat dipertimbangkan untuk digunakan adalah dengan metode maserasi yang kemudian dilakukan separasi dan evaporasi. Rasio kombinasi pelarut juga perlu dikaji untuk memastikan pelarut paling tepat untuk mengekstraksinya dan pelarut heksana:aseton dapat menjadi pilihan tepat untuk dikaji efektifitas ekstraksinya terhadap produk ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abeyrathne, E. D. N. S., Nam, K., and Ahn, D. U. 2021. Analytical methods for lipid oxidation and antioxidant capacity in food systems. *Antioxidants*, 10(10): 1587.
- Achir, N., Penicaud, C., Avallone, S., and Bohuon, P. 2011. Insight into  $\beta$ -carotene thermal degradation in oils with multiresponse modeling. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88(12): 2035-2045.
- Aladedunye, F. A. and Przybylski, R. 2013. Minor components in oils and their effects on frying performance. *Lipid Technology*, 25(4): 87–90.
- Alyas, S. A., Aminah, A., and Nor Aini, I. 2006. Change of  $\beta$ -carotene content during heating of red palm olein. *Journal of Oil Palm Research*, 18: 99-102.
- Amany, M. M. B., Shaker, M. A., and Abeer, A. K. 2012. Antioxidant activities of date pits in a model meat system. *International Food Research Journal*, 19: 223-227.
- Appea-Bah, F. B., Li, X., and Beta, T. 2021. Phenolic composition and antioxidant properties of cooked rice dyed with sorghum-leaf bio-colorants. *Foods*, 10(9): 2058.
- Ayeleso, A. O., Oguntibeju, O. O., and Brooks, N. L. 2012. Effects of dietary intake of red palm oil on fatty acid composition and lipid profiles in male wistar rats. *African Journal of Biotechnology*, 11: 8275-8279.
- Benzie, I. F. F. and Strain, J. J. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol*, 299: 15–27.
- Budiyanto, Silsia, D., Efendi, Z., and Janika, R. 2010. Perubahan kandungan  $\beta$ -karoten, asam lemak bebas dan bilangan peroksida minyak sawit merah selama pemanasan. *Jurnal Agritech*, 30(2): 75-79.
- Butt, M. S., Rasool, J., and Sharif, K. 2006. Preparation and characterisation of cake rusks by using red palm oil fortified shortening. *Food Science and Technology International*, 12(1): 85-90.

- Cano, A., Hernández-Ruíz, J., García-Cánovas, F., Acosta, M., and Arnao, M. B. 1998. An end-point method for estimation of the total antioxidant activity in plant material. *International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 9(4): 196-202.
- Cano, A., Acosta, M., and Arnao, M. B. 2000. A method to measure antioxidant activity in organic media: application to lipophilic vitamins. *Redox Report*, 5(6): 365-370.
- Cano, A., Alcaraz, O., Acosta, M., and Arnao, M. B. 2002. On-line antioxidant activity determination: Comparison of hydrophilic and lipophilic antioxidant activity using the ABTS+• assay. *Redox Report*, 7(2): 103–109.
- Cassiday, L. 2017. Red palm oil. *Journal Inform*, 28: 6-10.
- Ceci, R., Duranti, G., Leonetti, A., Pietropaoli, S., Spinozzi, F., Marcocci, L., Amendola, R., Cecconi, F., Sabatini, S., Mariottini, P., and Cervelli, M. 2017. Adaptive responses of heart and skeletal muscle to spermine oxidase overexpression: Evaluation of a new transgenic mouse model. *Free Radical Biology and Medicine*, 103: 216–225.
- Chaves, N., Santiago, A., and Alías, J. C. 2020. Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: Analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used. *Antioxidants*, 9(1): 76.
- Chmiel, T., Saputro, I. E., Kusznierevicz, B., and Bartoszek, A. 2017. The impact of cooking method on the phenolic composition, total antioxidant activity and starch digestibility of rice (*Oryza sativa L.*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1).
- Clevidence, B., Paetau, I. N. K. I. E., and Smith, J. C. 2000. Bioavailability of carotenoids from vegetables. *Horticultural Science*, 35(4): 585-587.
- Dauqan, E. M., Abdullah, A., and Sani, H. A. 2012. Effect of different concentrations of red palm olein and different vegetable oils on antioxidant enzymes in normal and stressed rat in antioxidant enzyme. *Journal Intech*, 11: 303- 320.
- Dawidowicz, A. L., Wianowska, D., and Olszowy, M. 2012. On practical problems in estimation of antioxidant activity of compounds by DPPH method (Problems in estimation of antioxidant activity). *Food Chemistry*, 131(3):1037-1043.
- Delisle, H. 2017. *The Nutritional Value of Red Palm Oil*. Burleigh-Dodds Science Publishing. Cambridge. Hlm. 217-231.
- Direktorat Jenderal Kesehatan Masyarakat. 2018. *Tabel Komposisi Pangan Indonesia 2017*. Kementerian Kesehatan RI. Jakarta. Hlm. 9-10.

- El-Hadad, N. N., Youssef, M. M., Abd El-Aal, M. H., and Abou-Gharbia, H. H. 2011. Utilisation of red palm olein in formulating functional chocolate spread. *Food Chemistry*, 124(1): 285-290.
- El-Hadad, N., Abou-Gharbia, H. A., Abd El-Aal, M. H., and Youssef, M. M. 2010. Red palm olein: Characterization and utilization in formulating novel functional biscuits. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(3): 295-304.
- Euis, R. Y. 2018. *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. In Deepublish; Yogyakarta.
- Fauzi, A. R. dan Tuhu, A. R. 2018. Kombinasi fenton dan fotokatalis sebagai alternatif pengolahan limbah batik. *Jurnal Envirotek*, 10(1): 37-45.
- Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., and Chun, O. K. 2011. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of food composition and analysis*, 24(7): 1043-1048.
- Florentina, Syamsir, E., Hunaefi, D., dan Budijanto, S. 2016. Teknik gelatinisasi tepung beras untuk menurunkan penyerapan minyak selama penggorengan minyak terendam. *Agritech*, 36(4): 387-393.
- Fracassetti, D., Pozzoli, C., Vitalini, S., Tirelli, A., and Iriti, M. 2020. Impact of cooking on bioactive compounds and antioxidant activity of pigmented rice cultivars. *Foods*, 9(8): 967.
- Gasmi, A., Mujawdiya, P.V., Noor, S., Lysiuk, R., Darmohray, R., Piscopo, S., Lenchyk, L., Antonyak, H., Dehtiarova, K., Shanaida, M., Polishchuk, A., Shanaida, V., Peana, M., and Bjorklund, G. 2022. Polyphenols in metabolic diseases. *Journal Molecules*, 27(19): 6280.
- Ghani, M. A., Barril, C., Bedgood Jr, D. R., and Prenzler, P. D. 2017. Measurement of antioxidant activity with the thiobarbituric acid reactive substances assay. *Food Chemistry*, 230: 195-207.
- Goufo, P. and Trindade, H. 2014. Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols,  $\gamma$ -oryzanol, and phytic acid. *Food Science and Nutrition*, 2(2): 75-104.
- Guo, X., Bi, Y., and Chen, J. 2018. Antioxidant activity and loss of  $\alpha$ -tocopherol and its effect on the total oxidation value of edible oils and fats under heating conditions. *Food Science*, 39(20): 27–33.
- Gülcin, I. 2012. Antioxidant activity of food constituents: An overview. *Archives of Toxicology*, 86(3): 345-391.

- Hasibuan, H. A., Akram, A., Putri, P., Rangkuti, B. T., dan Mentari, E. C. 2018. Pembuatan margarin dan baking shortening berbasis minyak sawit merah dan aplikasinya dalam produk bakery. *Agritech*, 38(4): 353-363.
- Hidayati, S., Nurdin, S. U., dan Nugroho, A. 2016. Aktivitas antioksidan dan sifat sensori dari nasi instan hasil hidrolisis pati yang diperkaya dengan ekstrak pegagan (*Centella asiatica*). *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*, 21(2): 77-88.
- Huang, D., Ou, B., and Prior, R. L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6): 1841-1856.
- Ionita, P. 2021. The chemistry of DPPH-free radical and congeners. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4): 1545.
- Issara, U. and Rawdkuen, S. 2016. Rice bran a potensial of main ingredients in healthy beverage. *International Food Research Journal*, 23(6): 2306-2318.
- 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 vestiaria giseke*). *Jurnal Ilmiah Sains*, 12(2): 84-88.
- Kedare, S. B. and Singh, R. P. 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48: 412-422.
- Khoiruddin, A. 2018. *Pengaruh Ekstrak Daun Katuk (Sauropus androgynus-L. Merr) terhadap Kadar MDA (Malondialdehyde) Darah Tikus Putih (Rattus norvegicus) yang dipapar Asap Rokok*. (Skripsi). Fakultas Kedokteran. Universitas Muhammadiyah Malang. Hlm. 7.
- Kim, D. O., Lee, K. W., Lee, H. J., and Lee, C. Y. 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 3713-3717.
- Kumar, P. P., Jeyarani, T., and Krishna, A. G. 2016. Physicochemical characteristics of phytonutrient retained red palm olein and butterfat blends and its utilization for formulating chocolate spread. *International Journal of Food Science and Technology*, 53: 3060-3072.
- Latha, R. B. and Nasirullah, D. R. 2014. Physico-chemical changes in rice bran oil during heating at frying temperature. *Journal of Food Science and Technology*, 51(2): 335-340.
- Liu, D., Shi, J., Ibarra, A. C., Kakuda, Y., and Xue, S. J. 2008. The scavenging capacity and synergistic effects of lycopene, vitamin E, vitamin C, and  $\beta$ -carotene mixtures on the DPPH free radical. *Food Science and Technology*, 41(7): 1344-1349.

- Liu, S. and Wang, Y. 2015. Mass spectrometry for the assessment of the occurrence and biological consequences of DNA adducts. *Chemical Society Reviews*, 44: 7829-7854.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., and Chandra, N. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Review*, 4(8): 118-126.
- Loganathan, R., Subramaniam, K. M., Radhakrishnan, A. K., Choo, Y. M., and Teng, K. T. 2017. Health-promoting effects of red palm oil: Evidence from animal and human studies. *Nutrition Reviews*, 75(2): 98-113.
- Loganathan, R., Tarmizi, A. H. A., Vethakkan, S. R., and Teng, K. T. 2020. Retention of carotenes and vitamin E, and physico-chemical changes occurring upon heating red palm olein using deep-fat fryer, microwave oven and conventional oven. *Journal of Oleo Science*, 69(3): 167-183.
- Mahardika. 2011. Peningkatan suhu pada *rice cooker* dihitung dalam 48 jam. *Teknologi Listrik*, 1: 6-8.
- Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P., and D'Alessandro, A. G. 2022. Free radical properties, source and targets, antioxidant consumption and health. *Journal of Oxygen*, 2(2): 48-78.
- Mastuti, R. 2015. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga celosia. *Bio Wallacea Jurnal Ilmiah Ilmu Biologi*, 2(3):143-148.
- Mayamol, P. N., Balachandran, D., Samuel, T., Sundaresan, A., and Arumughan, C. 2007. Process technology for the production of micronutrient-rich red palm olein. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84(6): 587596.
- Mendonca, J. S., Guimaraes, R. S. A., Pinheiro, V. A., Fernandes, C. D., Marcelino, G., Bogo, D., Freitas, K. C., Hiane, P. A., Melo, E. S., Vilela, M. L., and Nascimento, V. A. 2022. Natural antioxidant evaluation: A review of detection methods. *Journal Molecules*, 27(11): 3563.
- Müller, L., Fröhlich, K., and Böhm, V. 2011. Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay ( $\alpha$ TEAC), DPPH assay and peroxy radical scavenging assay. *Food Chemistry*, 129(1): 139-148.
- Munteanu, I. G. and Apetrei, C. 2021. Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7): 3380.
- Musa, K. H., Abdullah, A., Kuswandi, B., and Hidayat, M. A. 2013. A novel high throughput method based on the DPPH dry reagent array for determination of antioxidant activity. *Food Chemistry*, 141(4): 4102-4106.

- Nagendran B., Unnithan U. R., Choo, Y. M. and Sundram, K. 2000. Characteristic of red palm oil,  $\alpha$ -carotene-vitamin E-rich refined oil for food uses. *Food Nutrition Bulletin*, 21: 189-194.
- Novianti, M., Tiwow, V. M. A., dan Mustapa, K. 2017. Analisis kadar glukosa pada nasi putih dan nasi jagung dengan menggunakan metode spektronik 20. *Jurnal Akademika Kimia*, 6(2): 107-112.
- Nurdin, S. U., Sundari, Y. S., Herdiana, N., Nurainy, F., dan Sukohar, A. 2018. Respon glikemik dan aktivitas antioksidan nasi yang dimasak menggunakan campuran kunyit (*Curcuma longa* Linn.) dan kayu manis (*Cinnamomum sp.*). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 11(3): 143-150.
- Pe´rez-Jime´nez, J. and Saura-Calixto, F. 2006. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Research International*, 39: 791-800.
- Pérez-Gálvez, A., Viera, I., and Roca, M. 2020. Carotenoids and chlorophylls as antioxidants. *Antioxidants*, 9(6): 505
- Porter, W. L. 1993. Paradoxical behavior of antioxidants in food and biological systems. *Toxicology and Industrial Health*, 9(1-2): 93-122.
- Pranata, F. S., Purwijantiningsih, E., dan Swasti, Y. R. 2021. Potensi pembentukan pati resisten dan antioksidan dalam pembuatan nasi secang. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 7(2): 32-40.
- Putra, D. P. A., Sunardi, dan Saputra, R. W. 2023. Pengaruh substitusi margarin dengan RPO serta lama waktu *proofing* terhadap karakteristik roti manis. *Agrotechnology, Agribusiness, Forestry, and Technology (AGROFORETECH)*, 1(1):457-474.
- Raghuvanshi, R. S., Dutta, A., Tewari, G., and Suri, S. 2017. Qualitative characteristics of red rice and white rice procured from local market of Uttarakhand: A comparative study. *Journal of Rice Research*, 10(1): 49-53.
- 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.
- Rezy, F. 2020. *Pengaruh Penambahan Minyak Sawit Merah terhadap Karakteristik Margarin dari Minyak Kelapa*. Thesis Diploma. Universitas Andalas.
- Robiyansyah, Zuidar, A. S. dan Hidayati, S. 2017. Pemanfaatan minyak sawit merah dalam pembuatan biskuit kacang kaya beta karoten. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*, 22(1): 11-20.

- Rodriguez-Amaya, D. B. 2010. Quantitative analysis, in vitro assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids—A review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(7): 726-740.
- Rutz J. K., Borges, C. D., Zambiasi, R. C., Crizel-Cardozo, L.S., M. M., Kuck, L. S., and Norena, C. P. 2017. Microencapsulation of palm oil by complex coacervation for application in food systems. *Food Chemistry*, 220: 59-66
- Schaich, K. M., Tian, X., and Xie, J. 2015. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *Journal of Functional Foods*, 14: 111-125.
- Schlesier, K., Harwat, M., Böhm, V., and Bitsch, R. 2002. Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. *Free Radical Research*, 36(2): 177-187.
- Schroeder, M. T., Becker, E. M., and Skibsted, L. H. 2006. Molecular mechanism of antioxidant synergism of tocotrienols and carotenoids in palm oil. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 54(9): 3445-3453.
- Shahidi, F. and Zhong, Y. 2011. Revisiting the polar paradox theory: A critical overview. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(8): 3499-3504.
- Shahidi, F. and Zhong, Y. 2015. Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18: 757-781.
- Shimamura, T., Sumikura, Y., Yamazaki, T., Tada, A., Kashiwagi, T., Ishikawa, H., Matsui, T., Sugimoto, N., Akiyama, H., and Ukeda, H. 2014 . Applicability of the DPPH assay for evaluating the antioxidant capacity of food additives - inter-laboratory evaluation study. *Analytical Sciences Journal*, 30(7): 717-721.
- Sinaga, A. G. S., Siahaan, D., dan Sinaga, K. R. 2018. Potensi minyak sawit merah dan karotenoid sebagai suplemen antioksidan dalam pengujian toleransi glukosa pada tikus putih (*preliminary study*). *Talenta Conference Series*, 1(1): 251-256.
- Sindhi, V., Gupta, V., Sharma, K., Bhatnagar, S., Kumari, R., and Dhaka, N. 2013. Potential applications of antioxidants - A review. *Journal of Pharmacy Research*, 7: 828-835.
- Singh, R. L., Sharma, S., and Singh, P. 2014. Phytochemicals of nutraceutical importance: Antioxidants: Their health benefits and plant sources. *CABI Digital Library*, 16: 249-265.
- Sirivibulkovit, K., Nouanthavong, S., and Sameenoi, Y. 2021. Paper-based DPPH assay for antioxidant activity analysis. *Analytical Science*, 34(7): 795-800.



- Supriyono dan Sediawan, W. B. 2021. Antioxidant extraction from Indonesian crude palm oil and its antioxidation activity. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 1053(1): 1-10.
- Tama, A. K. 2022. *Pengaruh Penambahan Minyak Sawit Merah terhadap Karakteristik Mi Kering dari Campuran MOCAF dan Tepung Jagung*. Thesis Diploma. Universitas Andalas.
- Tan, C. H., Lee, C. J., Tan, S. N., Poon, D., Chong, C., and Pui, L. P. 2021. Red palm oil: A review on processing, health benefits and its application in food. *Journal of Oleo Science*, 70(9): 1201-1210.
- Tay, B., Ping, Y., Choo, Y. M. 2000. Valuable phytonutrients in commercial red palm olein. *Palm Oil Developments*, 32: 20-25.
- Vivek, K. G. and Surendra, K. S. 2006. Plants as natural antioxidants. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 5(4): 326-334.
- Wahjuningsih, S. B. dan Kunarto, B. 2012. Aktivitas antioksidan  $\beta$ -karoten ubi jalar yang dienkapsulasi menggunakan gum arab-maltodekstrin dan diaplikasikan pada *cookies*. *Agritech*, 29(1): 10-15.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Kanisius. Yogyakarta.
- Zaupa, M., Calani, L., Del Rio, D., Brighenti, F., and Pellegrini, N. 2015. Characterization of total antioxidant capacity and (poly) phenolic compounds of differently pigmented rice varieties and their changes during domestic cooking. *Food Chemistry*, 187: 338-347.
- Zeb, A. and Ullah, F. 2016. A simple spectrophotometric method for the determination of thiobarbituric acid reactive substances in fried fast foods. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2016: 1-5
- Zheng, L., Zhao, M., Xiao, C., Zhao, Q., and Su, G. 2016. Practical problems when using ABTS assay to assess the radical-scavenging activity of peptides: Importance of controlling reaction pH and time. *Food Chemical*, 192: 288-294.