

**KAJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN ASAM GALAT DAN KATEKIN DALAM  
BENTUK BEBAS DAN TERIKAT PADA  
PATI JAGUNG (*Zea mays*)**

(Skripsi)

Oleh

**WINDA VIDYANA**

**1814051065**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2025**

## **ABSTRACT**

### ***STUDY OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF GALLIC ACID AND CATECHIN IN FREE AND BOUND FORMS IN CORN (*Zea mays*) STARCH***

**BY**

**WINDA VIDYANA**

*Corn starch modified by conjugation with phenolic compounds such as catechin and gallic acid has the potential to enhance antioxidant activity. This study aimed to evaluate the antioxidant activity of free and starch-bound forms of catechin and gallic acid using the Free Radical Grafting (FRG) method. Antioxidant activity was assessed using DPPH, ABTS, and TBARS (meat system) methods, and the results were expressed as IC<sub>50</sub> values. The research employed a completely randomized design with six treatments and four replications. The results showed that phenolic conjugation improved antioxidant activity compared to free forms and native starch. The best treatment was starch–gallic acid 2% with IC<sub>50</sub> values of 4.935 ppm (DPPH), 6.129 ppm (TBARS), and 3.656 ppm (ABTS). These values were significantly lower than those of the other treatments, indicating high radical scavenging effectiveness. The increase in antioxidant activity is attributed to the phenolic aromatic groups capable of donating hydrogen atoms to stabilize free radicals. Phenolic conjugation onto corn starch via the FRG method resulted in promising antioxidant-rich materials for functional food development.*

**Keywords:** *bioactivity, grafting, free radicals, oxidative, polyphenols*

## **ABSTRAK**

### **KAJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN ASAM GALAT DAN KATEKIN DALAM BENTUK BEBAS DAN TERIKAT PADA PATI JAGUNG (*Zea mays*)**

**Oleh**

**WINDA VIDYANA**

Pati jagung yang dimodifikasi melalui konjugasi dengan senyawa fenolik seperti katekin dan asam galat berpotensi meningkatkan aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa katekin dan asam galat dalam bentuk bebas dan terkonjugasi dengan pati jagung menggunakan metode *Free Radical Grafting* (FRG). Penilaian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH, ABTS, dan TBARS (*meat system*), yang hasilnya dinyatakan dalam nilai  $IC_{50}$ . Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) nonfaktorial dengan enam perlakuan dan empat ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konjugasi senyawa fenolik meningkatkan aktivitas antioksidan dibandingkan bentuk bebas maupun pati murni. Perlakuan terbaik diperoleh pada pati-asam galat 2% dengan nilai  $IC_{50}$  masing-masing sebesar 4,935 ppm (DPPH), 6,129 ppm (TBARS), dan 3,656 ppm (ABTS). Nilai tersebut lebih rendah dibandingkan dengan bentuk bebas maupun perlakuan lainnya, yang menunjukkan efektivitas tinggi dalam menangkap radikal bebas. Mekanisme peningkatan aktivitas antioksidan ini berasal dari gugus aromatik fenol yang mampu mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas. Konjugasi fenolik pada pati jagung melalui metode FRG menghasilkan bahan dengan potensi tinggi sebagai antioksidan alami dalam pengembangan pangan fungsional.

**Kata kunci:** bioaktivitas, grafting, radikal bebas, oksidatif, polifenol

**KAJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN ASAM GALAT DAN KATEKIN DALAM  
BENTUK BEBAS DAN TERIKAT PADA  
PATI JAGUNG (*Zea mays*)**

Oleh

**WINDA VIDYANA**

**Skripsi**

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar  
**SARJANA TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN**

pada

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian  
Fakultas Pertanian Universitas Lampung



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2025**

Judul Skripsi

: KAJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN ASAM  
GALAT DAN KATEKIN DALAM BENTUK  
BEBAS DAN TERIKAT PADA PATI  
JAGUNG (*Zea mays*)

Nama Mahasiswa

: Winda Vidyana

Nomor Pokok Mahasiswa

: 1814051065

Program Studi

: Teknologi Hasil Pertanian

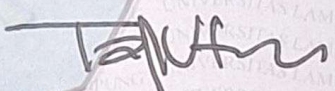
Fakultas

: Pertanian

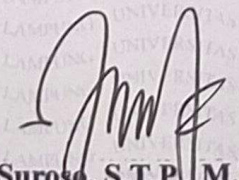
MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

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

  
Dr. Ir. Tanto Pratondo Utomo, M.Si.  
NIP. 19680807 199303 1 002

2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian

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

## MENGESAHKAN

### 1. Tim Penguji

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

Sekretaris : **Dr. Ir. Tanto Pratondo Utomo, M.Si.**

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

### 2. Dekan Fakultas Pertanian

**Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.**

NIP. 196411181989021002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 19 Juni 2025

## PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Winda Vidyana

NPM : 1814051065

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil kerja saya sendiri yang berdasarkan 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 akan siap mempertanggungjawabkan.

Bandar Lampung, 02 Juli 2025

Yang Membuat Pernyataan



Winda Vidyana  
1814051065

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Ganjar Agung, 08 Maret 2000, sebagai anak ketiga dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Puji Hartono dan Ibu Siti Samsiah. Penulis memiliki satu orang kakak laki-laki dan perempuan. Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di Madrasah Ibtida'iyah Negeri 2 Metro, yang lulus pada tahun 2012, kemudian melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 4 Metro dan lulus pada tahun 2015 yang dilanjutkan dengan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 1 Metro dan lulus pada tahun 2018. Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2018 melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Bulan Februari sampai 10 Maret 2021, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kelurahan Mulyosari, Kecamatan Metro Barat, Kota Metro. Bulan Agustus sampai dengan September 2021 penulis melaksanakan Praktik Umum di PT. Bosindo Cahaya Anugerah, Kedaton, Bandar Lampung dengan judul laporan "Mempelajari Teknologi Pengemasan di PT. Bosindo Cahaya Anugerah". Penulis selama menjadi mahasiswa aktif dalam organisasi kampus Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) sebagai Staf Ahli Kementerian Advokasi Publik BEM U KBM Universitas Lampung tahun 2020 dan juga Himpunan Mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian (HMJ THP) sebagai anggota Bidang Seminar dan Diskusi periode 2020-2021.

## SANWACANA

*Bismillahirrahmanirrahiim.* Puji Syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT. Karena atas Rahmat dan hidayah-Nya skripsi ini dapat terselesaikan. Skripsi dengan judul “Kajian Aktivitas Antioksidan Asam Galat dan Katekin dalam Bentuk Bebas dan Terikat pada Pati Jagung (*Zea mays*)” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknologi Hasil Pertanian di Universitas Lampung. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini telah mendapatkan banyak arahan, bimbingan, dan nasihat baik secara langsung maupun tidak langsung, sehingga penulis pada kesempatan ini mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A., C.EIA. selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang telah banyak memberikan bimbingan, motivasi, nasihat dan kesabaran dalam penyusunan skripsi dan selama perkuliahan.
3. Bapak Prof. Dr. Samsul Rizal, M.Si. selaku Koordinator Program Studi S1 Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang telah banyak memberikan motivasi, pengarahan, saran, nasihat dan kritikan dalam penyusunan skripsi dan selama perkuliahan.
4. Bapak Dr. Ir. Subeki, M.Si., M.Sc. selaku pembimbing pertama yang telah bersedia membimbing dengan penuh kesabaran dalam penyelesaian skripsi ini dan selama perkuliahan dengan nasihat, dukungan dan dorongan serta kritik dan saran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Bapak Dr. Ir. Tanto Pratondo Utomo, M.Si. selaku pembimbing kedua yang telah bersedia membimbing dengan penuh kesabaran dalam penyelesaian skripsi ini dan selama perkuliahan dengan nasihat, dukungan dan dorongan serta kritik dan saran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

6. Ibu Prof. Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati., M.Sc. selaku pembahas yang telah memberikan semangat, kesempatan, kritik serta bantuan dan saran guna terselesaikannya skripsi ini.
7. Ibu, Bapak, kakak dan keponakan saya tercinta atas segala kesabaran yang luar biasa, dukungan penuh secara materi, mental dan spiritual serta Andi Lewis Pratama yang mendukung penulis dan menyertai dalam setiap doanya.
8. Bapak dan Ibu dosen dan Staf administrasi dan laboratorium yang telah memberikan ilmu, wawasan, bantuan, dukungan dan motivasi kepada penulis selama perkuliahan.
9. Bapak Samsu Udayana Nurdin, M.Si. yang telah membimbing saya selama penelitian dan mendanai biaya penelitian saya.
10. Teman-teman seperjuangan THP Angkatan 2018, teman-teman THP A 2018, teman-teman yang senantiasa mengingatkan, mendorong dan mendukung penulis selama kuliah dan pengerjaan skripsi, Amel, Nisrina, Cica, Septin, Resti, Celly dan masih banyak lagi. Keluarga Besar HMJ THP dan Staf Advokasi BEM U atas pengalaman dan kebersamaannya.

Penulis sangat menyadari skripsi ini jauh dari kata sempurna, oleh sebab itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun dan dapat memberikan manfaat bagi penulis serta pembaca.

Bandar Lampung, 02 Juli 2025



Winda Vidyana

## DAFTAR ISI

|                                                                     | Halaman |
|---------------------------------------------------------------------|---------|
| DAFTAR ISI.....                                                     | ii      |
| DAFTAR TABEL.....                                                   | iv      |
| DAFTAR GAMBAR.....                                                  | vi      |
| I PENDAHULUAN.....                                                  | 1       |
| 1.1 Latar Belakang dan Masalah.....                                 | 1       |
| 1.2 Tujuan Penelitian.....                                          | 3       |
| 1.3 Kerangka Pemikiran.....                                         | 3       |
| 1.4 Hipotesis.....                                                  | 5       |
| II TINJAUAN PUSTAKA.....                                            | 6       |
| 2.1 Antioksidan.....                                                | 6       |
| 2.2 Katekin.....                                                    | 9       |
| 2.3 Asam Galat.....                                                 | 10      |
| 2.4 Konjugasi Senyawa Fenol pada Pati.....                          | 11      |
| III BAHAN DAN METODE.....                                           | 13      |
| 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....                                | 13      |
| 3.2 Bahan dan Alat.....                                             | 13      |
| 3.3 Metode Penelitian.....                                          | 14      |
| 3.4 Pelaksanaan Penelitian.....                                     | 15      |
| 3.4.1 Pembuatan larutan $H_2O_2$ yang mengandung asam askorbat..... | 15      |
| 3.4.2 Persiapan sintesis konjugat pati-katekin.....                 | 16      |
| 3.4.3 Persiapan sintesis konjugat pati-asam galat.....              | 18      |
| 3.5 Pengamatan.....                                                 | 20      |
|                                                                     | ii      |

|                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.5.1 Penentuan nilai IC <sub>50</sub> .....                                                                                          | 20 |
| IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....                                                                                                          | 24 |
| 4.1 Aktivitas Antioksidan Metode DPPH .....                                                                                           | 24 |
| 4.1.1 Pengaruh konsentrasi pati yang terkonjugasi Asam Galat terhadap aktivitas antioksidan metode DPPH .....                         | 25 |
| 4.1.2 Pengaruh konsentrasi pati yang terkonjugasi katekin terhadap aktivitas antioksidan metode DPPH .....                            | 28 |
| 4.2 Aktivitas Antioksidan Metode TBARS ( <i>meat System</i> ).....                                                                    | 31 |
| 4.2.1 Pengaruh konsentrasi pati yang terkonjugasi asam galat terhadap aktivitas antioksidan metode TBARS ( <i>meat system</i> ) ..... | 32 |
| 4.2.2 Pengaruh konsentrasi pati yang terkonjugasi katekin terhadap aktivitas antioksidan metode TBARS ( <i>meat system</i> ) .....    | 34 |
| 4.3 Aktivitas Antioksidan Metode ABTS .....                                                                                           | 38 |
| 4.3.1 Pengaruh konsentrasi pati yang terkonjugasi asam galat terhadap aktivitas antioksidan metode ABTS .....                         | 39 |
| 4.3.2 Pengaruh konsentrasi pati yang terkonjugasi katekin terhadap aktivitas antioksidan metode ABTS .....                            | 42 |
| 4.4 Pengaruh Jenis Senyawa Fenolik terhadap IC <sub>50</sub> Pati Terkonjugasi .....                                                  | 44 |
| V KESIMPULAN DAN SARAN.....                                                                                                           | 49 |
| 5.1 Kesimpulan .....                                                                                                                  | 49 |
| 5.2 Saran.....                                                                                                                        | 49 |
| DAFTAR PUSTAKA .....                                                                                                                  | 50 |
| LAMPIRAN.....                                                                                                                         | 55 |

## DAFTAR TABEL

| Tabel                                                                                                     | Halaman |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1 Formulasi pati jagung dan senyawa fenol.....                                                            | 14      |
| 2 Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH.....                                                    | 27      |
| 3 Hasil uji lanjut BNT 5% terhadap nilai IC <sub>50</sub> pati modifikasi DPPH.....                       | 45      |
| 4 Hasil uji lanjut BNT 5% terhadap nilai IC <sub>50</sub> pati modifikasi TBARS...                        | 46      |
| 5 Hasil uji lanjut BNT 5% terhadap nilai IC <sub>50</sub> pati modifikasi ABTS.....                       | 47      |
| 6 Nilai absorbansi kurva standar asam galat (standar total fenol)<br>dengan spektrofotometri 760 nm ..... | 56      |
| 7 Data nilai total fenol pati jagung yang dikonjugasikan dengan<br>katekin.....                           | 57      |
| 8 Uji homogenitas total fenol pati jagung yang dikonjugasikan<br>dengan katekin .....                     | 57      |
| 9 Analisis ragam total fenol pati jagung yang dikonjugasikan dengan<br>katekin.....                       | 58      |
| 10 Hasil uji BNT 5% total fenol pati jagung yang dikonjugasikan<br>dengan katekin .....                   | 58      |
| 11 Data nilai IC <sub>50</sub> metode DPPH pati modifikasi .....                                          | 59      |
| 12 Uji homogenitas nilai IC <sub>50</sub> metode DPPH pati modifikasi .....                               | 59      |
| 13 Analisis ragam nilai IC <sub>50</sub> metode DPPH pati modifikasi.....                                 | 60      |
| 14 Hasil uji BNT 5% nilai IC <sub>50</sub> metode DPPH pati modifikasi.....                               | 60      |
| 15 Data nilai IC <sub>50</sub> metode TBARS ( <i>meat system</i> ) pati modifikasi .....                  | 60      |
| 16 Uji homogenitas nilai IC <sub>50</sub> metode TBARS ( <i>meat system</i> ) pati<br>modifikasi.....     | 61      |
| 17 Analisis ragam nilai IC <sub>50</sub> metode TBARS ( <i>meat system</i> ) pati<br>modifikasi.....      | 61      |
| 18 Hasil uji BNT 5% nilai IC <sub>50</sub> metode TBARS ( <i>meat system</i> ) pati<br>modifikasi.....    | 62      |
| 19 Data nilai IC <sub>50</sub> metode ABTS pati modifikasi.....                                           | 62      |

|    |                                                                   |    |
|----|-------------------------------------------------------------------|----|
| 20 | Uji homogenitas nilai $IC_{50}$ metode ABTS pati modifikasi ..... | 63 |
| 21 | Analisis ragam nilai $IC_{50}$ metode ABTS pati modifikasi.....   | 63 |
| 22 | Hasil uji BNT 5% nilai $IC_{50}$ metode ABTS pati modifikasi..... | 64 |
| 23 | Nilai aktivitas penghambatan uji DPPH .....                       | 64 |
| 24 | Nilai aktivitas penghambatan uji TBARS.....                       | 66 |
| 25 | Nilai aktivitas penghambatan uji ABTS .....                       | 67 |

## DAFTAR GAMBAR

| Gambar                                                                                                                                                                                            | Halaman |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1 Mekanisme pemberian satu elektron oleh antioksidan kepada radikal bebas .....                                                                                                                   | 7       |
| 2 Struktur kimia katekin .....                                                                                                                                                                    | 9       |
| 3 Struktur kimia asam alat .....                                                                                                                                                                  | 10      |
| 4 Diagram alir pembuatan larutan $H_2O_2$ yang mengandung asam askorbat .....                                                                                                                     | 15      |
| 5 Diagram alir pembuatan konjugat pati-katekin dengan metode free radical grafting .....                                                                                                          | 17      |
| 6 Diagram alir pembuatan konjugat pati-asam galat dengan metode <i>free radical grafting</i> .....                                                                                                | 19      |
| 7 Reaksi terbentuknya warna kuning molekul radikal DPPH.....                                                                                                                                      | 24      |
| 8 Kurva regresi linier aktivitas antioksidan senyawa asam galat dengan pati metode DPPH; a (C2 (asam galat)), b (C4 (pati-asam galat 2%)), c (C5 (pati-katekin 0%)), d (C6 (pati murni)). .....   | 27      |
| 9 Kurva regresi linier aktivitas antioksidan senyawa katekin dengan pati metode DPPH; a (C1 (katekin)), b (C3 (pati-katekin 2%)), c (C5 (pati-katekin 0%)), d (C6 (pati murni)). .....            | 30      |
| 10 Reaksi pembentukan kompleks MDA-TBA .....                                                                                                                                                      | 31      |
| 11 Kurva regresi linier aktivitas antioksidan senyawa asam galat dengan pati metode TBARS; a (C2 (asam galat)), b (C4 (pati-asam galat 2%)), c (C5 (pati-katekin 0%)), d (C6 (pati murni)). ..... | 34      |
| 12 Kurva regresi linier aktivitas antioksidan senyawa katekin dengan pati metode TBARS; a (C1 (katekin)), b (C3 (pati-katekin 2%)), c (C5 (pati-katekin 0%)), d (C6 (pati murni)). .....          | 36      |
| 13 Reaksi senyawa ABTS dengan antioksidan.....                                                                                                                                                    | 38      |
| 14 Kurva regresi linier aktivitas antioksidan senyawa asam galat dengan pati metode ABTS; a (C1 (asam galat)), b (C3 (pati-asam galat 2%)), c (C5 (pati-katekin 0%)), d (C6 (pati murni)). .....  | 41      |
| 15 Kurva regresi linier aktivitas antioksidan senyawa katekin dengan                                                                                                                              |         |

|    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |    |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
|    | pati metode ABTS; a (C1 (katekin)), b (C3 (pati-katekin 2%)), c (C5 (pati-katekin 0%)), d (C6 (pati murni)).....                                                                                                                                                                                                                                                | 43 |
| 16 | Grafik kurva standar asam galat.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 56 |
| 17 | Proses <i>free radical grafting</i> pati-katekin : (a) pembuatan larutan sumber radikal, (b) pencampuran pati dengan larutan sumber radikal, (c) pendiaman selama 10 menit, (d) penyimpanan konjutan pati-katekin pada erlenmeyer shaker, (e) perendaman tabung dialysis, (f) pemisahan dengan sentrifugasi, (g) endapan pati-katekin, (h) pengeringan sampel.. | 70 |

## **I. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Pada era modern ini, manusia kurang memperhatikan kesehatannya dan menjalani pola hidup yang kurang baik seperti konsumsi makanan yang tidak seimbang, kurangnya beraktivitas fisik serta adanya stres. Pola hidup yang tidak sehat dapat menyebabkan berbagai macam penyakit yang dapat menyebabkan kematian. Salah satu penyakit yang dapat ditimbulkan dari gaya hidup tidak sehat adalah penyakit degeneratif. Penyakit degeneratif muncul akibat kerusakan sel karena adanya reaktivitas senyawa radikal bebas yang dapat menurunkan fungsi atau struktur dari jaringan atau organ tubuh dari waktu ke waktu (Indriyawati, 2015). Menurut Cahyadi (2008), penyakit degeneratif dapat dicegah dengan cara memperlambat proses oksidasi, menghentikan rantai reaksi oksidatif dengan donasi elektron, atom hidrogen dan adisi pada radikal peroksi sebelum atau sesudah terjadinya oksidasi parsial.

Manusia mampu menghasilkan senyawa antioksidan melalui proses kimia (Sayuti dan Yenrina, 2016). Meski demikian, manusia masih tetap memerlukan asupan antioksidan dari luar apabila terbentuk radikal bebas karena tubuh tidak memiliki cadangan antioksidan dalam jumlah yang lebih. Antioksidan dapat diperoleh secara alami dari senyawa-senyawa metabolit sekunder tanaman yang mempunyai struktur cincin aromatis fenol atau senyawa fenolik yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan dalam menstabilkan radikal bebas dengan mendonorkan elektron pada radikal bebas serta menghambat reaksi berantai pembentukan radikal bebas (Winarsi, 2017). Senyawa fenolik yang terdapat pada tanaman, seperti teh memiliki kandungan utama polifenol seperti flavonol katekin, galokatekin, epikatekin, epikatekin galat, epigalokatekin, dan epigalokatekin

galat), flavonol (quercetin, kaempferol, dan glikosidanya), flavanol, asam fenolik (asam galat dan asam klorogenat) (Sahidi dan Naczki, 2014). Senyawa flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa polifenol yang memiliki efek kardioprotektif, yaitu antioksidan kuat (Sudaryat *et al.*, 2015).

Senyawa fenol berupa katekin dan asam galat dapat berperan sebagai antioksidan yang mampu melindungi sel-sel  $\beta$  pankreas dari reaksi peroksidasi berantai yang disebabkan oleh *Reactive Oxygen Species* (ROS). Produksi ROS yang berlebih dapat menyebabkan kerusakan sel karena ketidakmampuan antioksidan intraseluler yang dihasilkan oleh tubuh seperti SOP (*Superoxide Dismutase*), Gpx (*Glutathione peroxidase*) dan *catalase* untuk menetralkan radikal bebas yang ada.

Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Cirillo *et al.* (2012) dengan mengkonjugasikan pati jagung dengan quercetin menggunakan metode *Free Radical Grafting* (FRG) mampu menghasilkan senyawa kovalen yang dapat meningkatkan aktivitas antioksidan pada pati jika dibandingkan dengan pati tanpa perlakuan konjugasi quercetin. Pati merupakan polisakarida hasil sintesis dari tanaman hijau melalui proses fotosintesis dalam bentuk granula. Polisakarida yang terdapat pada granula pati terbagi menjadi amilosa dan amilopektin. Pati jagung alami memiliki kadar amilosa yang lebih rendah dibanding kadar amilopektinnya. Pati jagung mengandung 15 – 30% amilosa, 70 – 85% amilopektin dan 5 – 10% material antara. Kelebihan pati jagung ialah memiliki nilai indeks glikemik yang lebih rendah yakni sebesar 41,22 (Amalia *et al.*, 2011). Maka dari itu dilakukan modifikasi pati jagung untuk mendapatkan sifat fungsional dan nilai gizi yang berbeda dari pati alami dengan metode FRG sebagai bahan baku pangan fungsional yang akan dikombinasikan dengan senyawa katekin ataupun asam galat.

Senyawa asam galat dan katekin dianggap memiliki aktivitas antioksidan yang paling baik. Hal ini didukung oleh penelitian dari Hasanah *et al.* (2012), yang menyatakan bahwa senyawa katekin memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Sekaligus penelitian oleh Farhoosh dan Nystrom (2018), yang menyatakan bahwa senyawa asam galat terbukti berpotensi sebagai antioksidan terbaik. Berdasarkan hal tersebut perlu diketahui aktivitas antioksidan senyawa asam galat dan katekin

bebas, senyawa asam galat dan katekin yang terikat pada pati sehingga dapat menentukan senyawa mana yang memiliki aktivitas antioksidan terbaik dengan mencari nilai  $IC_{50}$  nya. Hubungan antara aktivitas antioksidan dengan  $IC_{50}$  mempunyai korelasi berbanding terbalik. Semakin kecil nilai senyawa uji  $IC_{50}$ , semakin besar aktivitas antioksidan dari senyawa tersebut (Zou *et al.*, 2004). Oleh sebab itu, perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan untuk mencari nilai  $IC_{50}$  pada pati jagung yang dikonjugasikan dengan asam galat bebas dan katekin bebas menggunakan metode FRG sehingga dapat diketahui bahwa pati yang dikonjugasikan dengan asam galat bebas dan katekin bebas memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dengan melihat nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh jika dibandingkan dengan pati yang tidak dikonjugasikan dengan asam galat bebas dan katekin bebas.

## 1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan senyawa katekin dan asam galat bebas dengan yang terkonjugasi dengan pati jagung.

## 1.3 Kerangka Pemikiran

Senyawa polifenol merupakan senyawa yang memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya dan secara umum terbagi atas dua kelompok besar yaitu flavonoid dan asam fenolat. Flavonoid merupakan kelompok senyawa polifenol terbesar di alam yang memiliki efek sebagai kardioprotektif atau antioksidan yang sangat kuat (Sudaryat *et al.*, 2015). Katekin dan asam galat merupakan senyawa fenol dengan aktivitas antioksidan yang baik. Antioksidan mampu menghambat kerusakan akibat proses oksidasi atau stres oksidatif. Pada tubuh manusia dapat terjadi stres oksidatif yang diakibatkan oleh produksi ROS yang melebihi kemampuan sel dalam menyediakan respon antioksidan yang efektif. ROS merupakan molekul reaktif radikal bebas yang secara kimia berasal dari turunan molekular oksigen (Anand *et al.*, 2017) seperti anion superoksida ( $O_2^-$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), dan radikal hidroksil ( $HO\bullet$ ) (Ray *et al.*, 2012). ROS terbentuk

karena terjadinya proses metabolisme di dalam tubuh yang dipicu oleh adanya stresor, seperti sinar ultraviolet, radiasi serta aktivitas fisik. Molekul reaktif ini bertanggung jawab atas peristiwa buruk yang terjadi di dalam tubuh seperti proses inflamasi sistemik, proliferasi sel endotel, apoptosis, serta vasokonstriksi sehingga dapat menyebabkan berbagai penyakit khususnya penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes melitus ataupun penyakit jantung koroner.

Senyawa fenolik dapat menghasilkan aktifitas antioksidan yang berperan sebagai agen pereduksi serta antioksidan pendonor atom hidrogen dengan cara mereduksi radikal bebas (Zuraida *et al.*, 2017). Senyawa fenolik apabila dikonjugasikan dengan pati dapat menghasilkan senyawa terkonjugasi dengan sifat fungsional dan nilai gizi berbeda (Liu *et al.*, 2017). Proses konjugasi senyawa fenolik dapat dilakukan dengan menggunakan metode FRG dengan sistem redoks. Prinsip dari metode FRG adalah konjugat polisakarida-polifenol akan disintesis menggunakan pasangan redoks, asam askorbat dan  $H_2O_2$  yang larut dalam air (Curcio *et al.*, 2009). Menurut Queiroz *et al.* (2019) menyatakan bahwa, masing-masing pasangan redoks dari asam askorbat dan  $H_2O_2$  akan bereaksi membentuk askorbat dan radikal hidroksil selama proses konjugasi pati dengan senyawa fenolik berupa asam galat. Radikal hidroksil yang dihasilkan berinteraksi dengan menyerang atom-H pada rantai samping molekul polisakarida sehingga membentuk polisakarida makro-radikal. Polisakarida makro-radikal berinteraksi dengan gugus cincin polifenol pada senyawa fenol dan membentuk konjugat polisakarida asam galat dan polisakarida katekin dengan ikatan kovalen sehingga menghasilkan konjugat pati dengan aktivitas antioksidan yang tinggi dan mampu menangkap radikal bebas. Hal ini juga didukung oleh penelitian sebelumnya oleh Cirillo *et al.* (2012) yang menggunakan metode FRG untuk mengkonjugasikan pati dan quercetin sehingga menghasilkan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi. Dari penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan senyawa konjugasi pati yang memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi dan mencegah terjadinya stres oksidatif.

Konjugat pati yang dihasilkan dari metode FRG selanjutnya diteliti aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) karena

metode ini sederhana, cepat, dan mudah dilakukan untuk menentukan aktivitas antioksidan (Frindryani, 2016), metode ABTS (*2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfona*) karena metode ini memiliki kelebihan yaitu absorbansi spesifik pada panjang gelombang terlihat dan waktu reaksi yang lebih cepat, selain itu ABTS dapat dilarutkan dalam pelarut organik maupun udara sehingga dapat mendeteksi senyawa yang bersifat lipofilik maupun hidrofilik, namun pengujian menggunakan ABTS tidak memberikan gambaran sistem pertahanan tubuh terhadap radikal bebas sehingga ABTS hanya dapat dijadikan sebagai metode pembandingan karena tidak mewakili sistem biologi tubuh (Karadag, 2009), dan metode *Meat system* TBARS (*thiobarbituric acid-reactive species*) karena metode ini memiliki kelebihan yakni mudah dilakukan, memiliki tingkat sensitivitas yang cukup tinggi sehingga dapat digunakan untuk mengukur perpoksidasi lipid dan radikal bebas serta biasa digunakan untuk keperluan uji klinis karena dapat merefleksikan kondisi pasien secara klinis (Jardine, 2002). Parameter yang digunakan untuk uji ini adalah  $IC_{50}$  yaitu konsentrasi yang dibutuhkan untuk menangkap radikal 50% (Zou *et al.*, 2004). Nilai  $IC_{50}$  diperoleh dari persamaan regresi yang dihasilkan, semakin kecil nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh maka senyawa yang terkandung pada sampel tersebut semakin efektif digunakan sebagai penangkal radikal bebas.

#### 1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah konjugasi katekin dan asam galat berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan pati jagung.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Antioksidan

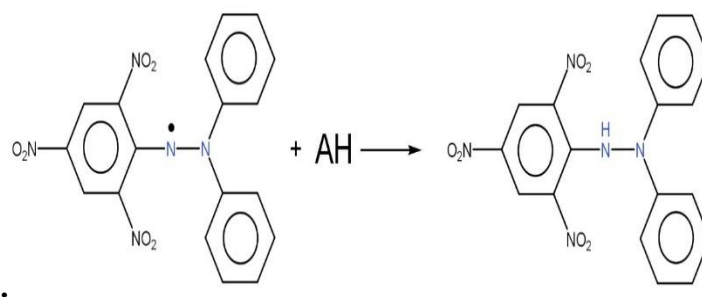
Antioksidan merupakan suatu senyawa yang mampu menghambat terbentuknya reaksi oksidasi karena memiliki sifat sebagai pemberi elektron (donor elektron) serta dapat mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Sudaryat *et al.*, 2015). Tubuh manusia secara alami dapat memproduksi antioksidan seperti enzim katalase, glutathione peroksidase, glutathione S-transferase, dan superoksida dismutase. Namun pada kondisi ketika radikal bebas yang terdapat dalam tubuh melebihi batas kemampuan antioksidan seluler maka diperlukan antioksidan tambahan dari luar (Sayuti dan Yenrina, 2015). Antioksidan dapat diperoleh dari makanan yang mengandung banyak vitamin C, vitamin E, dan beta karoten atau senyawa fenolik.

Menurut Halliwell dan Gutteridge (2000), menyatakan bahwa antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif/spesies nitrogen aktif (ROS/RNS) dan juga radikal bebas sehingga dapat mencegah penyakit-penyakit yang dihubungkan dengan radikal bebas seperti karsinogenesis, kardiovaskular dan penuaan dini. Radikal bebas merupakan suatu molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan, molekul tersebut diantaranya yaitu atom hidrogen, logam-logam transisi, dan molekul oksigen. Elektron tidak berpasangan ini yang menyebabkan radikal bebas bersifat sangat reaktif karena dengan mudah dapat tertarik pada suatu medan magnet (paramagnetik) (Yuslianti, 2018).

Pemberian antioksidan menunjukkan dapat menangkap radikal bebas, mengurangi stres oksidatif, menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$ . Senyawa fitokimia ternyata mampu

memanipulasi dengan berbagai mekanisme sehingga dapat mengurangi stres oksidatif, ROS dan TNF- $\alpha$  (Tiwari, 2002). Antioksidan 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. Radikal bebas dapat menyebabkan penyakit degeneratif, mengoksidasi protein, lemak, asam nukleat dan DNA sel. Antioksidan dapat menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron radikal bebas serta menghambat radikal bebas dan mengubahnya menjadi senyawa non radikal bebas (Tursiman *et al.*, 2012).

Tubuh manusia secara normal dapat membentuk oksigen reaktif (oksidan) atau biasa disebut dengan radikal bebas yang dihasilkan dari proses metabolisme sel oleh enzim oksidase yaitu hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), ion superoksida ( $\text{O}_2^-$ ), dan radikal hidroksil ( $\text{HO}\cdot$ ) (Ray *et al.*, 2012). Pembentukan radikal anion superoksida seperti ROS dapat mengakibatkan terjadinya stres oksidatif yang akan memicu timbulnya berbagai penyakit hingga kematian sel. Kerusakan oksidatif akibat radikal bebas dapat dihambat pembentukannya oleh antioksidan (Anand *et al.*, 2017). Mekanisme pemberian satu elektronan antioksidan kepada radikal bebas disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1 Mekanisme pemberian satu elektron oleh antioksidan kepada radikal bebas

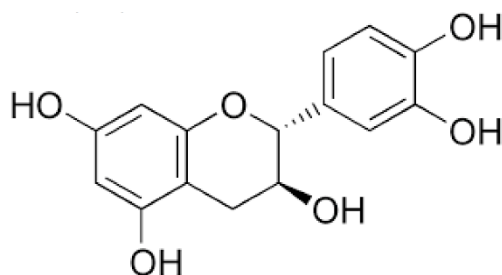
Pemberian elektron ini dimaksudkan untuk menstabilkan radikal bebas yang bersifat reaktif. Radikal bebas bersifat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan. Semakin banyak kandungan polifenol maka akan semakin banyak elektron yang didonorkan kepada radikal bebas sehingga akan meningkatkan aktivitas antioksidannya. Aktivitas antioksidan diduga memiliki korelasi dengan kadar polifenol. Polifenol merupakan komponen kimia yang mempunyai aktivitas antioksidan karena memiliki atom hidrogen yang akan didonorkan kepada radikal bebas (Suzuki *et al.*, 2003). Gugus hidroksil pada polifenol memiliki elektron yang akan didonorkan polifenol kepada radikal bebas. Fenol merupakan senyawa organik dengan gugus hidroksil yang terikat pada cincin benzena. Fenol memiliki golongan utama diantaranya seperti flavonoid, tanin, kalkon, kumarin serta asam fenolat. Fenol adalah zat kristal yang tidak berwarna serta memiliki bau khas. Fenol dapat berperan sebagai reduktor karena dapat dengan mudah mengalami oksidasi. Senyawa fenol telah diketahui memiliki berbagai efek biologis seperti aktivitas antioksidan sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pengkkelat logam, peredam terbentuknya oksigen singlet serta pendonor elektron (Karadeniz *et al.*, 2005).

Tingginya aktivitas antioksidan dapat dilihat juga dari nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  digunakan sebagai parameter pengujian antioksidan yang dapat menghambat 50% oksidasi. Semakin rendah nilai  $IC_{50}$  maka aktifitas antioksidan semakin tinggi (Widyastuti *et al.*, 2016). *Inhibition Concentration* 50% ( $IC_{50}$ ) merupakan konsentrasi sampel yang mampu menangkal radikal bebas sebanyak 50% yang diperoleh melalui persamaan regresi, semakin kecil nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh dari suatu senyawa uji maka senyawa yang terkandung tersebut semakin efektif digunakan sebagai penangkal radikal bebas. Menurut Barasa (2014) menyatakan bahwa senyawa antioksidan sangat kuat apabila memiliki  $IC_{50} < 50$  ppm, tergolong kuat apabila  $IC_{50}$  memiliki nilai antara 50-100 ppm, tergolong sedang apabila  $IC_{50}$  memiliki nilai antara 101-150 ppm, dan tergolong lemah apabila  $IC_{50}$  memiliki nilai 151-200 ppm. Nilai  $IC_{50}$  didapatkan dari persamaan regresi linier yang menyatakan adanya hubungan konsentrasi senyawa uji dengan persen aktivitas antioksidan yang ditimbulkan. Hubungan antara aktivitas antioksidan dengan  $IC_{50}$

mempunyai korelasi berbanding terbalik. Semakin kecil nilai senyawa uji  $IC_{50}$ , semakin besar aktivitas antioksidan dari senyawa tersebut (Zou *et al.*, 2004).  $IC_{50}$  merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi efektif yang mampu menghambat aktivitas suatu antioksidan sebesar 50% (Mahindrakar *and* Rathod, 2020).

## 2.2 Katekin

Katekin adalah antioksidan fenolik yang biasa ditemukan dalam cokelat, anggur merah, teh hijau, buah-buahan (aprikot atau ceri), dan sayuran termasuk kacang polong. Katekin memiliki rumus kimia  $C_{15}H_{14}O_6$ , tidak berwarna dalam keadaan murni, larut dalam alkohol dan etil asetat, berbentuk kristal halus seperti jarum. Katekin makanan terdiri dari berbagai jenis seperti catechin, epicatechin, epigallocatechin, epicatechin gallate, dan epigallocatechin gallate (Muzolf *et al.*, 2012). Katekin secara kimia terdiri dari dua cincin benzena (cincin A dan B) dan heterosiklik dihidropiran (cincin C) dengan gugus hidroksil pada karbon 3. Ada dua pusat kiral pada molekul pada karbon 2 dan 3. Stereoisomer katekin di Konfigurasi cis ((-)-epicatechin) atau trans ((+)- catechin), sehubungan dengan karbon 2 dan 3, adalah senyawa flavan-3. Katekin memiliki sifat larut dalam air, tidak berwarna, dan tidak memberikan rasa pahit. Katekin merupakan senyawa yang serupa dengan tanin terkondensasi yang disebut polifenol karena gugus hidroksil yang dimilikinya. Katekin memiliki sifat fitokimia yang menjadi tantangan dalam aplikasinya sebagai bahan alam. Struktur kimia katekin disajikan pada Gambar 2.

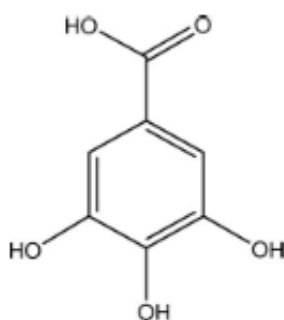


Gambar 2 Struktur kimia katekin

Katekin menyesuaikan generasi radikal oksigen, yang mungkin bertanggung jawab setidaknya sebagian untuk peningkatan hiperglikemia, hiperlipidemia, dan stres oksidatif. Aktivitas antioksidan katekin yang sangat kuat memberikan peluang manfaat bagi tubuh dalam upaya melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas dan berperan penting dalam pencegahan penyakit degenerative (Hani *and* Milanda, 2016). Katekin dikenal memiliki sifat antioksidan yang lebih baik dari pada  $\alpha$ -tokoferol, hydroxyanisole butylated (BHA) atau butylated hydroxytoluene (BHT).

### 2.3 Asam Galat

Asam galat merupakan golongan senyawa fenol diketahui memiliki aktifitas antivirus, antijamur, antioksidan, agen antikarsinogenik serta memiliki kemampuan sitotoksik melawan sel kanker tanpa merusak sel tubuh lainnya. Asam galat memiliki kemampuan sebagai agen antioksidan lebih kuat dibanding trolox, suatu analog dari vitamin E yang larut dalam air. Asam galat merupakan senyawa polifenol yang ditemukan dalam olahan minuman seperti *red wine* dan teh hijau. Pada tumbuhan biasa ditemukan dalam bentuk asam bebas, ester, turunan katekin dan tanin terhidrolisis (Pal *et al.*, 2018). Struktur kimia asam galat disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3 Struktur kimia asam galat

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).

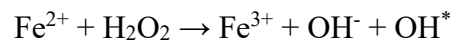
## 2.4 Konjugasi Senyawa Fenol pada Pati

Konjugasi senyawa fenol pada pati dapat dilakukan dengan metode *Free Radical Grafting* (FRG). *Grafting* media radikal bebas FRG merupakan metode *grafting* yang menggunakan media radikal bebas. Metode ini dinilai memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode *grafting* lainnya seperti *grafting* dengan media kopling kaboimida, *grafting* katalis enzim dan metode elektrokimia dikarenakan prosesnya lebih mudah, ramah lingkungan serta tidak bersifat toksik sehingga aman jika diaplikasikan terhadap produk pangan (Jing *et al.*, 2019).

Pencangkakan (*grafting*) merupakan teknik yang secara luas dilakukan untuk memodifikasi bahan polimer dengan mendapatkan sifat-sifat tertentu polimer yang diinginkan. Pada reaksi pencangkakan terbentuk ikatan kovalen antar monomer dengan rantai polimer. Metode FRG menghasilkan konjugasi antar polisakarida dan polifenol dengan menggunakan sistem inisiator redoks. Radikal bebas yang dihasilkan dari inisiator dengan pengaruh panas selanjutnya mengabstraksi atom hidrogen polimer substrat, sehingga terbentuk radikal pada molekul polimer. Selanjutnya monomer bertindak sebagai akseptor radikal membentuk kopolimer cangkok. Kemudian monomer menjadi donor radikal pada monomer tetangganya, begitu seterusnya.

Proses konjugasi pati dengan senyawa polifenol yang dilakukan oleh Queiroz *et al.* (2019) menggunakan senyawa asam galat dengan asam askorbat dan  $H_2O_2$  yang masing-masing pasangan redoknya bereaksi membentuk askorbat dan radikal hidroksil. Radikal hidroksil yang dihasilkan berinteraksi dengan menyerang atom-H pada rantai samping molekul polisakarida sehingga membentuk polisakarida makro-radikal. Polisakarida makro-radikal akan

berinteraksi dengan gugus cincin senyawa polifenol pada asam galat dan membentuk konjugat polisakarida asam galat dan ikatan kovalen. Proses konjugasi pati dengan asam galat, radikal bebas akan bereaksi membentuk  $\text{H}_2\text{O}_2$  yang banyak diproduksi di mitokondria dan mikrosom serta dapat menembus membran sel. Hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) merupakan oksidan yang kuat karena dapat bereaksi dengan senyawa. Pada keadaan stress oksidatif terbentuk radikal bebas oksigen dan  $\text{H}_2\text{O}_2$  yang berlebih sehingga sistem proteksi tubuh seperti enzim katalase tidak dapat menetralkan semua radikal bebas oksigen yang terbentuk. Apabila  $\text{H}_2\text{O}_2$  bereaksi dengan  $\text{Fe}^{2+}$  maka terbentuklah radikal bebas hidroksil melalui reaksi fenton. Mekanisme yang terjadi dalam reaksi fenton sebagai berikut:



Reaksi fenton menghasilkan sumber radikal hidroksil yang dapat mengoksidasi senyawa organik maupun inorganik. Radikal hidroksil adalah spesies yang sangat reaktif. Apabila radikal hidroksil bereaksi dengan polisakarida sehingga akan membentuk polisakarida makro-radikal. Selanjutnya polisakarida makro-radikal akan berinteraksi dengan gugus cincin polifenol membentuk konjugat polisakarida dan senyawa fenolik.

### 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 Juni 2022 hingga Agustus 2022

#### 3.2 Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan yaitu pati jagung sigma aldrich 9005-25-08, katekin hidrat sigma aldrich C1251-5G,  $\text{H}_2\text{O}_2$  food grade, asam askorbat sigma aldrich A92902-100G, aquadest dan  $\text{Fe}_2\text{SO}_4$ . Bahan yang digunakan untuk analisis antara lain metanol, etanol 96%, bubuk DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*), bubuk ABTS (*2,2-azinobis (3-etibenzotiazolin)-6-asam sulfonat*),  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ , TCA (Trichloro acid), EDTA, TBA (Tiobarbiturat acid), alumunium foil dan potongan daging sapi cincang.

Alat yang akan digunakan antara lain adalah neraca analitik, *magnetic stirrer*, penjepit, karet gelang, ember, erlenmeyer shaker, label, pH meter, oven, loyang, pipet tip, beaker glass, gelas ukur, erlenmeyer, labu terukur, tabung dialysis D9527-100ft, vortex (H-VM-400), botol gelap tertutup, penangas air, corong, stopwatch, sterofom, gunting, penggaris, tabung reaksi, mikropipet, pipet tip, sentrifugasi.

### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua tahap. Tahap pertama bertujuan untuk membuat konjugat pati dan katekin dengan berbagai konsentrasi. Kemudian pada tahap kedua penelitian dilakukan untuk mengetahui nilai  $IC_{50}$  pati murni, katekin dan asam galat bebas serta konjugat pati-katekin dan konjugat pati-asam galat.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) nonfaktorial dengan 6 perlakuan dan 4 kali ulangan. Perlakuan pada penelitian ini adalah penambahan senyawa fenol dengan beberapa konsentrasi yang terdiri dari katekin bebas (C1), asam galat bebas (C2), pati-katekin 2% per berat pati (C3), pati-asam galat 2% per berat pati (C4), pati-katekin 0% (C5) dan pati murni (C5). Formulasi pati jagung dan senyawa fenol (b/b) disajikan pada Tabel 1.

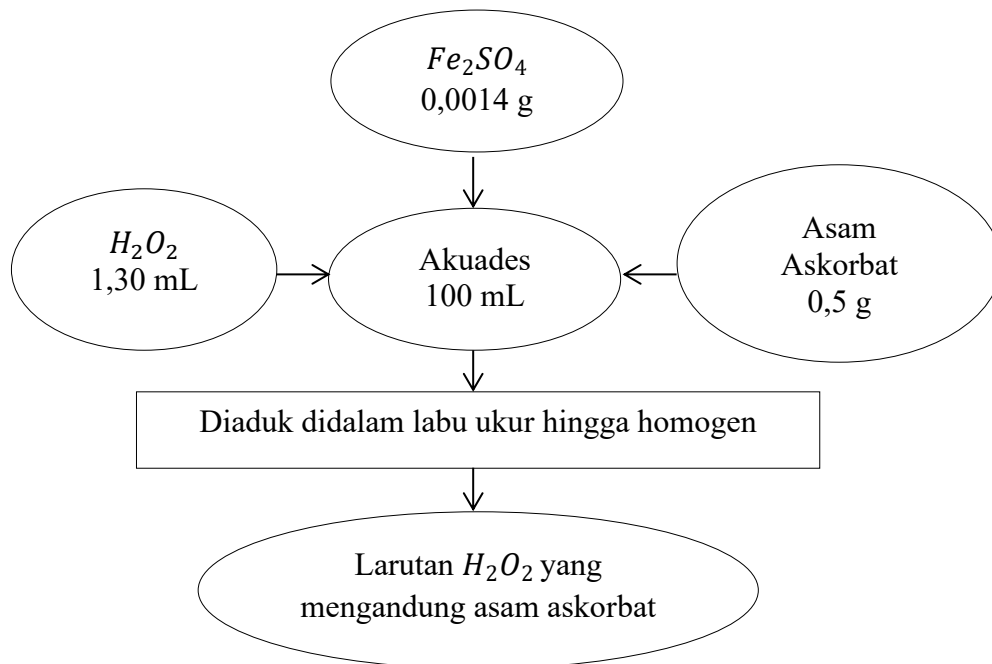
Tabel 1 Formulasi pati jagung dan senyawa fenol

| Formula | Senyawa Fenol | Konsentrasi Senyawa Fenol (per berat pati) | Berat Pati Jagung (g) | Berat Senyawa Fenol (g) | Metode FRG |
|---------|---------------|--------------------------------------------|-----------------------|-------------------------|------------|
| C1      | Katekin       | 100%                                       | 0                     | 0,01                    | Tidak      |
| C2      | Asam Galat    | 100%                                       | 0                     | 0,01                    | Tidak      |
| C3      | Katekin       | 2%                                         | 25                    | 0,5                     | Ya         |
| C4      | Asam Galat    | 2%                                         | 25                    | 0,5                     | Ya         |
| C5      | Katekin       | 0%                                         | 25                    | 0                       | Ya         |
| C6      | -             | -                                          | 0                     | 0                       | Tidak      |

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.4.1 Pembuatan larutan $H_2O_2$ yang mengandung asam askorbat

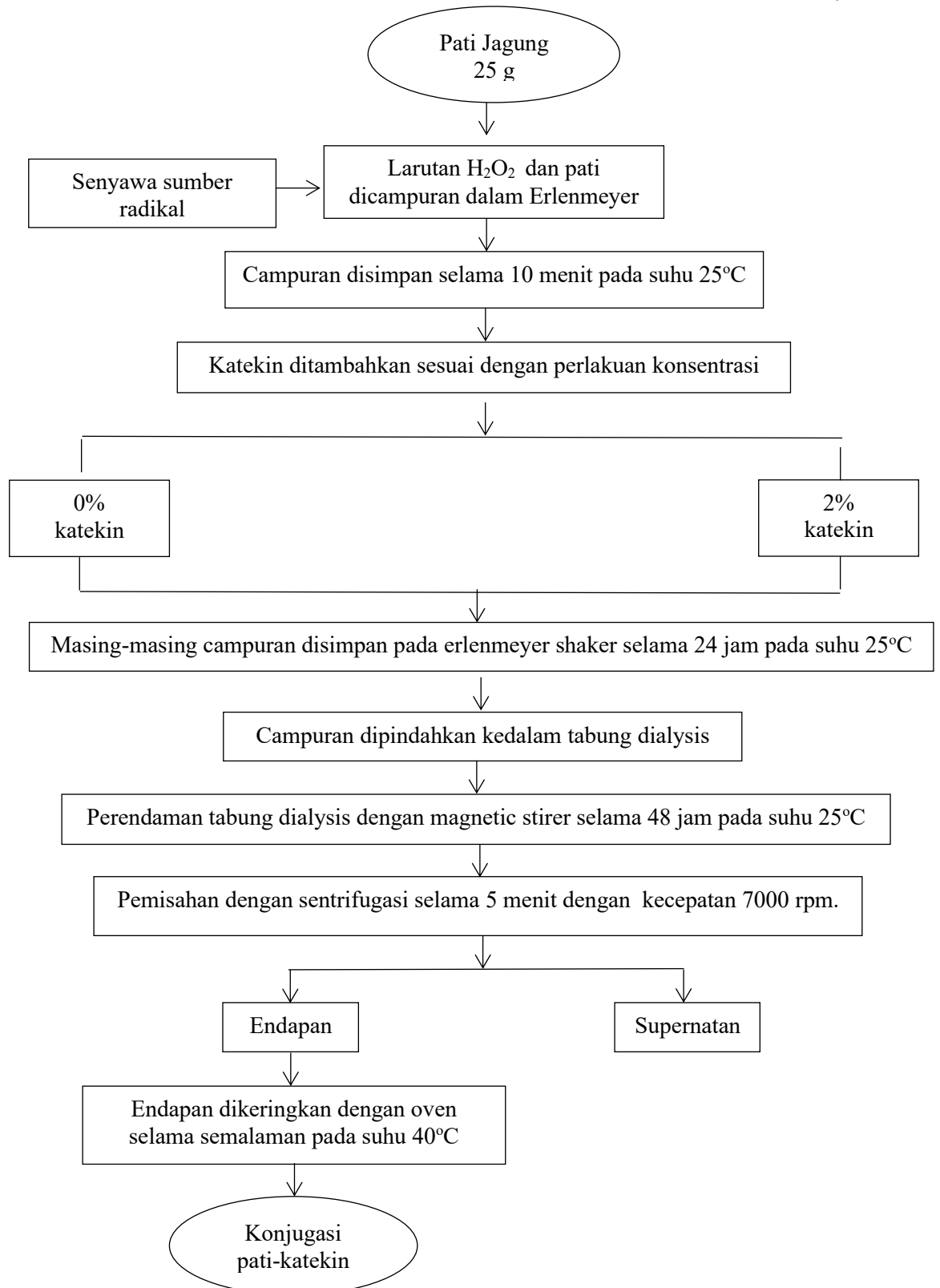
Persiapan awal dengan proses pembuatan larutan  $H_2O_2$  yang mengandung asam askorbat dengan mengikuti metode yang digunakan Cirillo *et al.*, (2012) yang dimodifikasi. Larutan  $H_2O_2$  *food grade*, aquadest, dan asam askorbat dimasukkan ke dalam beaker glass, kemudian diaduk hingga larut. Diagram alir proses pembuatan larutan  $H_2O_2$  yang mengandung asam askorbat disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4 Diagram alir pembuatan larutan  $H_2O_2$  yang mengandung asam askorbat

### 3.4.2 Persiapan sintesis konjugat pati-katekin

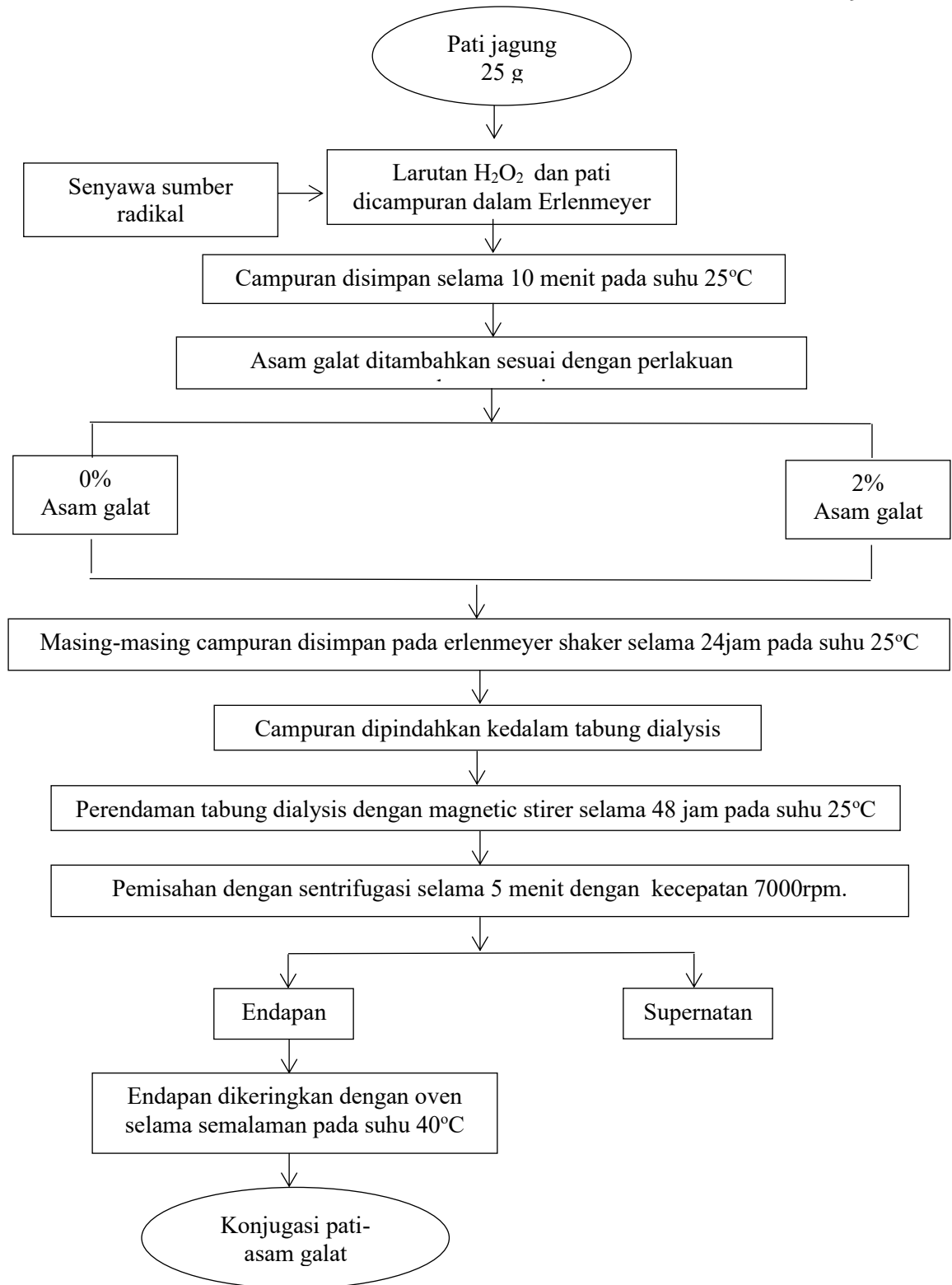
Persiapan sintesis konjugat pati-katekin dilakukan berdasarkan metode yang digunakan Cirillo *et al.* (2012) dengan sedikit modifikasi penambahan  $\text{Fe}_2\text{SO}_4$  yang merujuk pada metode Liu *et al.* (2017). Pati jagung sebanyak 25 g dilarutkan dalam beaker glass 500 mL, dengan ditambahkan 100 mL aquadest yang mengandung larutan  $\text{H}_2\text{O}_2$  yang mengandung asam askorbat, kemudian didiamkan selama 10 menit. Katekin ditambahkan ke dalam campuran dengan perbandingan molar rasio pati-katekin 0% dan 2%. Campuran diletakkan dalam erlenmeyer dan ditaruh pada erlenmeyer shaker pada suhu  $25^\circ\text{C}$  selama 24 jam kecepatan 200 rpm, kemudian dimasukkan ke dalam tabung dialysis (MWCD : 14.000) dan direndam didalam wadah yang berisi aquadest di magnetic stirrer pada suhu  $20^\circ\text{C}$  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  $40^\circ\text{C}$ . Diagram alir proses pembuatan konjugat pati-katekin dengan metode FRG dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5 Diagram alir pembuatan konjugat pati-katekin dengan metode *free radical grafting*

### 3.4.3 Persiapan sintesis konjugat pati-asam galat

Persiapan sintesis konjugat pati-asam galat dilakukan berdasarkan metode yang digunakan Cirillo *et al.* (2012) dengan sedikit modifikasi penambahan  $\text{Fe}_2\text{SO}_4$  yang merujuk pada metode Liu *et al.* (2017). Pati jagung sebanyak 25 g dilarutkan dalam beaker glass 500 mL, dengan ditambahkan 100 mL aquadest yang mengandung larutan  $\text{H}_2\text{O}_2$  yang mengandung asam askorbat, kemudian didiamkan selama 10 menit. Asam galat ditambahkan ke dalam campuran dengan perbandingan molar rasio pati-asam galat masing-masing 0% dan 2%. Campuran diletakkan dalam erlenmeyer dan ditaruh pada erlenmeyer shaker pada suhu  $25^\circ\text{C}$  selama 24 jam kecepatan 200 rpm, kemudian dimasukkan ke dalam tabung dialysis (MWCD : 14.000) dan direndam didalam wadah yang berisi aquadest di magnetic stirrer pada suhu  $20^\circ\text{C}$  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  $40^\circ\text{C}$ . Diagram alir proses pembuatan konjugat pati-asam galat dengan metode FRG disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6 Diagram alir pembuatan konjugat pati-asam galat dengan metode *free radical grafting*

### 3.5 Pengamatan

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan aktivitas antioksidan metode 2,2-*diphenyl-1-picrylhydrazil* (DPPH), aktivitas antioksidan metode 2,2 *azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfona* (ABTS), dan aktivitas antioksidan metode *Meat system thiobarbituric acid-reactive species* (TBARS). Selanjutnya, dilakukan pengamatan ilai IC<sub>50</sub> senyawa AG, K, AG dan K yang terikat pada pati.

#### 3.5.1 Penentuan nilai IC<sub>50</sub>

Prinsip pengujian ini dilakukan secara kuantitatif yaitu dilakukan dengan pengukuran penangkapan radikal bebas oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 517 nm pada penangkapan radikal DPPH, panjang gelombang 734 nm pada penangkapan radikal ABTS dan panjang gelombang 532 nm pada penangkapan radikal TBARS, sehingga dengan demikian akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC<sub>50</sub>.

Sampel dibuat dalam seri pengenceran 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% pada sampel pati-katekin 0% dan 2%, pati-asam galat 2% dan pati murni serta seri pengenceran seri pengenceran 100 ppm, 80 ppm, 60 ppm, 40 ppm, 20 ppm dan 0 ppm pada sampel katekin dan asam galat bebas, selanjutnya sampel diuji aktivitas antioksidannya sesuai perlakuan.

##### 3.5.1.1 Aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Analisis aktivitas antiokasidan dilakukan mengikuti metode yang dilakukan Ismail *et al.* (2012) dan Shimamura *et al.* (2014), yang telah dimodifikasi dengan menggunakan metode DPPH. Penentuan penangkal radikal bebas ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning atau kuning muda, setelah sebelumnya dilakukan inkubasi selama 30 menit dalam wadah gelap dan tertutup.

Analisis aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH diawali dengan persiapan sampel sebanyak 0,5 g ke dalam tabung reaksi yang telah ditutup dengan aluminium foil. Kemudian ditambahkan 5 mL etanol 96%, divorteks hingga larut, jika tidak larut sampel disentrifuse dan diambil bagian larutannya saja. Larutan sampel kemudian diencerkan dalam etanol sesuai perlakuan diambil 0,1 mL dan ditambahkan 1 mL larutan DPPH dan ditambahkan etanol sebanyak 3 mL. Selanjutnya diinkubasi selama 30 menit ruangan tertutup, lalu dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer.

Larutan blanko merupakan etanol tanpa campuran 0,1 mL. Larutan kontrol dibuat dengan 1 mL DPPH ditambahkan dengan 3 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:

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

Keterangan :

Ak = Absorbansi kontrol

As = Absorbansi sampel

### 3.5.1.2 Aktivitas antioksidan dengan metode ABTS

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

Selanjutnya persiapan larutan sampel diambil sebanyak 0,01 g sampel ditambahkan 2 mL etanol, divorteks selama 1 menit, jika tidak larut disentrifuse

selama 5 menit diambil larutannya saja. Kemudian larutan sampel diencerkan sesuai perlakuan. Pengujian dilakukan dengan 100 µl sampel yang telah diencerkan ditambahkan larutan ABTS sebanyak 2,9 mL secara cepat didalam wadah tertutup yang sebelumnya telah dilapisi oleh alumunium foil. Kemudian divorteks 1 menit, dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dan gelap. Pengukuran absorbansi pada spektrofotometer dilakukan setelah inkubasi.

Larutan kontrol dibuat dengan 100 µl pelarut (dalam uji ini digunakan etanol), kemudian ditambahkan ABTS 2,9 mL secara cepat, divorteks 1 menit. Kemudian diinkubasi selama 30 menit dan diukur absorbansinya. Pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer dilakukan pada panjang gelombang 734 nm setelah sampel selesai diinkubasi. Besarnya daya antioksidan dihitung dengan rumus:

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

Keterangan :

Ak = Absorbansi kontrol

As = Absorbansi sampel

### 3.5.1.3 Aktivitas antioksidan dengan metode TBARS (*Meat System*)

Uji ini dilakukan mengikuti uji yang sebelumnya telah dilakukan oleh Amany *et al.* (2012), dengan sedikit penyesuaian. Uji ini dilakukan dengan menyiapkan 0,2 g sampel yang telah diencerkan dalam etanol sesuai perlakuan. Kemudian ditambah daging yang sudah dihaluskan sebanyak 5 g daging merah. Kemudian diaduk hingga tercampur rata. Kemudian ditambah dengan 0,1 mL  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  (5 mM) dan 0,1 mL  $H_2O_2$  (100 mM) diaduk hingga tercampur rata, kemudian divorteks selama 1 menit. Setelah selesai sampel diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruang.

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, 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.

Hasil pengukuran nilai absorbansi sampel pati-katekin 0% dan 2%, pati-asam galat 2%, katekin bebas, asam galat bebas dan pati murni pada metode DPPH, ABTS dan TBARS kemudian dihitung nilai IC<sub>50</sub>. Nilai DPPH, ABTS dan TBARS yang dinyatakan sebagai persen inhibisi, dihitung berdasarkan persamaan berikut:

$$(\% \text{ inhibisi}) = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

Keterangan:

A<sub>kontrol</sub> = Absorbansi kontrol

A<sub>sampel</sub> = Absorbansi kontrol + sampel

Selanjutnya ditentukan nilai IC<sub>50</sub> yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50% dengan menggunakan persamaan  $y = ax + b$ . Nilai x pada persamaan menunjukkan konsentrasi (ppm) sedangkan nilai y menunjukkan peredaman yang diberikan oleh larutan sampel sehingga untuk menghitung IC<sub>50</sub> dilakukan dengan cara memasukkan nilai 50 pada variabel y dalam persamaan regresi linier yang telah didapat. Untuk menentukan nilai IC<sub>50</sub>, dibuat suatu grafik hubungan linier antara konsentrasi sampel dengan aktivitas antioksidan sebagai nilai inhibisi. Kemudian, konsentrasi ketika nilai daya hambat sebesar 50%, yang merupakan nilai IC<sub>50</sub>, ditentukan dari persamaan garis linear yang diperoleh.

## **V. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian, kesimpulan penelitian ini adalah konjugasi katekin dan asam galat dengan pati jagung meningkatkan aktivitas antioksidan dibandingkan bentuk bebasnya konjugasai pati-asam galat 2% memberikan aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai  $IC_{50}$  DPPH (4,935 ppm), TBARS (6,129 ppm), dan ABTS (3,656 ppm).

### **5.2 Saran**

Perlu dilakukan penelitian lanjutan konjugasi pati dengan senyawa fenol dengan berbagai jenis pati untuk mengetahui bagaimana sifat-sifat pati yang berbeda mempengaruhi efektivitas konjugasi dan aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, L., and Ekayanti, I. 2014. Effect of antioxidant supplements on malondialdehyde plasma level among college students of IPB. *Jurnal Gizi dan Pangan*, 9 (1): 35–42.
- Angkasa, D., dan Sulaeman, A. 2012. *Pengembangan Minuman Fungsional Sumber Serat dan Antioksidan dari Daun Hantap (Sterculia oblongata R. Brown.)*. (Skripsi). Departemen Gizi Masyarakat, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Aprilia, A., dan Putri, S. 2015. Uji aktivitas antioksidan senyawa fenolik ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu (*Xylocarpus moluccensis*). *Journal of Chemistry*, 4 (1): 1–6.
- Barasa, L. B. 2014. *Formulasi Gel Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L.) dalam Berbagai Variasi Konsentrasi CMS-Na dan Gliserin*. (Skripsi). Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Cahyadi, W. 2008. *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*. Bumi Aksara, Jakarta.
- Chou, S. F., Luo, L. J., and Lai, J. Y. 2016. Gallic acid grafting effect on delivery performance and antiglaucoma efficacy of antioxidant-functionalized intracameral pilocarpine carriers. *Acta Biomaterialia*, 38 (1):116-128.
- Cirillo, G., Puoci, F., Iemma, F., Curcio, M., Parisi, O. I., Spizzirri, U. G., Altieri, I., and Picci, N. 2012. Starch-quercetin conjugate by radical grafting: synthesis and biological characterization. *Pharmaceutical Development and Technology*, 17 (4): 466-476.
- Decroli, Eva. 2019. *Diabetes Melitus Tipe 2*. Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang.

- Fitriana, W. D., Fatmawati, S., dan Ersam, T. 2015. Uji aktivitas antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari fraksi-fraksi daun kelor (*Moringa oleifera*). *Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains (SNIPS)*: 657–660.
- Frindryani, L. F. 2016. *Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa dalam Ekstrak Etanol Temu Kunci (Boesenbergia pandurata) dengan Metode DPPH*. (Skripsi). Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta.
- Hadriyono, K. R. P., dan Kurniawati, A. 2011. *Karakter Kulit Manggis, Kadar Polifenol dan Potensi Antioksidan Manggis pada Berbagai Umur Buah dan Setelah Buah dipanen*. (Skripsi). Departemen Agronomi dan Hortikultura, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Halliwell, B., and Gutteridge, J. M. C. 2000. *Free Radical in Biology and Medicine* (4th ed.). New York: Oxford University Press.
- Hani, R. C., dan Milanda, T. 2016. Manfaat antioksidan pada tanaman buah di Indonesia. *Farmaka*, 14: 184–190.
- Indriyawati, N. 2015. Senyawa Fenolik dan Alginat dari Ganggang Coklat Sargassaceae Indo-Pasifik: Ekstraksi, Pemurnian, Kuantifikasi dan Aktivitas Senyawanya. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi 2015*. Malang, 276-287
- International Diabetes Federation. 2017. *IDF Diabetes Atlas* (8th ed.). [www.diabetesatlas.org](http://www.diabetesatlas.org). Diakses pada 27 Desember 2021
- Jardine, D., Aniolovich, M. S., Prenzler, R., and Robards, K. 2002. Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) investigation of the thiobarbituric acid substances (TBARS) reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 1720-1724.
- Jing, Y., Diao, Y., and Yu, X. 2019. Free radical-mediated conjugation of chitosan with tannic acid: characterization and antioxidant capacity. *Journal Reactive and Functional Polymers*, 135: 16-22.
- Karadeniz, F., Burdurlu, H. S., Koca, N., and Soyer, Y. 2005. Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. *Turk. J. Agric*, 29: 297-303.

- Kementerian Kesehatan RI. 2014. *Waspada Diabetes Eat Well Live Well*. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI.
- Liu, F., Ma, C., Gao, Y., and McClement, D. J. 2016. Food-grade covalent complexes and their application as nutraceutical delivery systems: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16 (1): 76-95.
- Liu, J., Pu, H., Chen, C., Liu, Y., Bai, R., Kan, J., and Jin, C. H. 2017. Reaction mechanisms, structural and physicochemical properties of caffeic acid grafted chitosan synthesized in ascorbic acid and hydroxyl peroxide redox system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1-40.
- Malrianti, Y., Kasim, A., Asben, A., dan Yeni, G. 2020. Kenaikan nilai aktivitas antioksidan nanokatekin dibanding katekin konvensional dan peluang pada hard candy. *Jurnal Litbang Industri*, 10 (1): 7-14.
- Muzolf, M., Gliszczynska, A., Szymusiak, H., and Tyrakowska, B. 2012. The influence of stereochemistry on the antioxidant properties of catechin. *European Food Research and Technology*, 235: 1001-1009.
- Oliveiraa, S., Glalci, A. S., Camila, R. E., Thuany, A. S., Edmar, S., Oriana, A. F., Marcelo, J., Pena, F., and Paulete, R. 2014. Evaluation of antiradical assays used in determining the antioxidant capacity of pure compounds and plant extracts. *Artigo*, 37 (3): 497-503.
- Pal, S. M., Avneet, G., dan Siddhraj, S. S. 2018. Gallic Acid: Pharmacological promising lead molecule: a review. *Internasional Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research*, 10 (4): 131-138.
- Prakash, A., Rigelhof, F., and Miller, E. 2001. Antioxidant activity. *Laboratories Analytical Progress :Medallion*.
- Purwatresna, E. 2012. *Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Air Dan Etanol Daun sirsak Secara In Vitro Melalui Inhibisi Enzim  $\alpha$ -Glukosidase*. (Skripsi). Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rohdiana, D., Dede, Z. A., dan Mamay, S. 2013. *Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas DPPH oleh Teh Putih Berdasarkan Suhu dan Lama Penyeduhan*. Bandung : Universitas Pasundan.
- Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan, penyelamat sel-sel tubuh manusia. *Bio Trends*, 4 (1): 5-9.

- Shahidi, F. and Naczki, M. 2004. *Phenolics in Food Neutraceuticals*. Boca Raton: CRC Press.
- Shalaby, E. A., and Shanab, S. M. M. 2013. Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of spirulina platensis. *Indian Journal Geo-Marine Science*, 42: 556–554.
- Sayuti, K. Dan Yenrina, R. 2016. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Asosiasi Penerbit Perguruan Tinggi Indonesia.
- Suzuki, M., Mitsuaki, S., Risa, Y., Masakuni, D., Toshio, M. and Maeda, Y. 2003. Epimerization of tea catechin and o-methylated derivatives of (-)-epigallocatechin-3-O-gallate: relationship between epimerization and chemical structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 510-514.
- Tursiman, A. P., dan Nofiani, R. 2012. Total fenol fraksi etil asetat dari buah asam kandis (*Garcinia dioica* Blume). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 1 (1): 45-48.
- Ukheyanna, E., Suryani., Roswien, A. P. 2012. *Aktivitas Antioksidan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Tumbuhan Suruhan*. (Skripsi). Departemen Biokimia, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., and Telser, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological function and human disease. *Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39: 44-84.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wulansari, A. N. 2018. Review: Alternatif cantigi ungu (*Vaccinium varingiaefolium*) sebagai antioksidan alami. *Farmaka*, 16 (2): 419-429.
- Widyawati, P.S., Wijaya, C. H., Harjosworo, P. S. Dan Sajuthi, D. 2010. Pengaruh ekstraksi dan fraksinasi terhadap kemampuan menangkap radikal bebas DPPH (1,1- difenil-2- Pikrilhidrazil) ekstrak dan fraksi daun beluntas (*Pluchea indica* Less). *Prosiding Seminar Rekayasa Kimia dan Proses*, Universitas Diponegoro, Semarang.

Zou, Y., Lu., and Wei, D. 2004. Antioxidant activity of a flavanoid-rich extract of hupicium perforatum L. in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 5032-5039.