

POTENSI SENYAWA FENOLIK BAHAN ALAM SEBAGAI ANTIOKSIDAN ALAMI MINYAK GORENG NABATI

Aning Ayucitra¹⁾, Nani Indraswati¹⁾, Viska Mulyandasari²⁾, Yulianus Kurniawan Dengi²⁾,
Gideon Francisco²⁾, dan Aditya Yudha²⁾
E-mail: aayucitra@yahoo.com

ABSTRAK

Antioksidan adalah substansi yang dapat menghambat atau mencegah proses oksidasi pada substrat yang mudah teroksidasi (bahan makanan yang mengandung karbohidrat, protein, dan lemak) jika ditambahkan pada konsentrasi rendah. Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat dibedakan menjadi dua, yaitu antioksidan sintesis dan antioksidan alami. Antioksidan sintesis yang dikenal sebagai antioksidan paling efektif untuk minyak nabati adalah tert-butyl hydroquinon (TBHQ), sedangkan antioksidan alami umumnya diperoleh dari senyawa fenolik atau polifenol tumbuhan yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, tokoferol, dan lain-lain.

Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari potensi senyawa fenolik bahan alam sebagai antioksidan alami minyak goreng kelapa sawit. Senyawa fenolik diperoleh dengan cara mengekstrak tongkol jagung dan kulit petai dengan menggunakan pelarut etanol. Ekstrak fenolik yang diperoleh selanjutnya diaplikasikan dalam simulasi proses penggorengan dengan minyak goreng kelapa sawit dan dibandingkan dengan simulasi penggorengan di mana ditambahkan antioksidan sintesis TBHQ.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa antioksidan alami ekstrak tongkol jagung dan kulit petai dapat menghambat oksidasi pada minyak goreng kelapa sawit selama proses penggorengan berlangsung. Antioksidan alami dari kulit petai mampu mengurangi nilai PV lebih besar dibandingkan dengan antioksidan sintesis TBHQ, demikian pula halnya dengan nilai p-AnV. Penambahan ekstrak fenolik pada minyak dapat meningkatkan kadar FFA, namun peningkatan ini masih memenuhi syarat SNI untuk minyak goreng.

Kata kunci: tongkol jagung, kulit petai, antioksidan alami, fenolik, kualitas, minyak goreng

PENDAHULUAN

Penggunaan minyak goreng dalam proses penggorengan secara berulang-ulang dapat mengakibatkan terjadinya oksidasi pada minyak, sehingga minyak menjadi mudah tengik dan berbahaya bagi kesehatan karena mengandung radikal bebas yang dapat mengakibatkan tubuh mudah terserang berbagai macam penyakit. Untuk mencegah proses oksidasi tersebut, maka perlu ditambahkan antioksidan pada minyak goreng sebelum digunakan dalam proses penggorengan^[1]. Minyak goreng kelapa sawit merupakan salah satu bahan kebutuhan pokok masyarakat Indonesia sehingga perlu adanya jaminan kesehatan terhadap antioksidan yang digunakan untuk produk minyak goreng kelapa sawit yang dipasarkan di masyarakat.

Antioksidan yang umumnya ditambahkan pada minyak goreng adalah antioksidan sintesis seperti *butylated hydroxyanisole (BHA)*, *butylated hydroxytoluene (BHT)*, *tert-butyl hydroquinone (TBHQ)*, dan *propyl gallat*^[1,2]. Antioksidan sintesis lebih sering digunakan sebagai antioksidan minyak goreng karena tergolong murah dan cukup efektif untuk digunakan sebagai antioksidan. Namun dewasa ini pemakaian antioksidan sintesis mulai

mendapat respon negatif karena berpotensi menyebabkan kanker dalam tubuh^[2,3]. Di beberapa negara maju, seperti Jepang dan Kanada, penggunaan antioksidan sintesis seperti *BHA*, *BHT*, dan *TBHQ* telah dilarang^[2]. Oleh karena itu, penggunaan antioksidan alami sebagai pengganti semakin diminati karena dipercaya lebih aman untuk kesehatan.

Indonesia, sebagai salah satu negara agraris yang kaya akan sumber daya alam, memiliki beragam tumbuhan yang berpotensi besar untuk dimanfaatkan, salah satunya sebagai sumber antioksidan alami^[4]. Dari studi literatur menunjukkan bahwa tanaman jagung dan petai mengandung senyawa fenolik yang berpotensi sebagai antioksidan untuk minyak nabati^[3,4,5]. Tanaman jagung dan petai tersedia melimpah di Indonesia karena kedua tanaman ini mudah tumbuh di mana saja, akan tetapi tongkol jagung maupun kulit petai masih belum banyak dipergunakan dan biasanya dibuang begitu saja sebagai limbah. Oleh karena itu, pemanfaatan tongkol jagung dan kulit petai sebagai sumber antioksidan alami sangat menjanjikan dan perlu untuk diteliti lebih dalam.

Pada penelitian ini, senyawa fenolik dari tongkol jagung dan kulit petai diperoleh dengan

¹⁾ Staf Pengajar di Fakultas Teknik, Jurusan Teknik Kimia, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

²⁾ Mahasiswa di Fakultas Teknik, Jurusan Teknik Kimia, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

cara ekstraksi menggunakan pelarut etanol. Pelarut etanol dipilih karena tergolong murah, mudah diperoleh, dan relatif lebih aman dibandingkan dengan pelarut organik lain^[3]. Hasil ekstrak yang diperoleh lalu ditambahkan ke dalam minyak goreng kelapa sawit sebelum dilakukan simulasi proses penggorengan. Kualitas minyak goreng (dinyatakan dalam parameter *PV*, *p-AnV*, dan *FFA*) dengan penambahan ekstrak akan dibandingkan dengan kualitas minyak goreng dengan penambahan antioksidan sintetis *TBHQ*. Melalui penelitian ini diharapkan dapat diperoleh antioksidan alami yang memiliki kemampuan setara dengan antioksidan sintetis *TBHQ* dan meningkatnya perhatian dari produsen minyak goreng dan masyarakat terhadap penggunaan antioksidan alami sebagai pengganti antioksidan sintetis pada minyak goreng kelapa sawit.

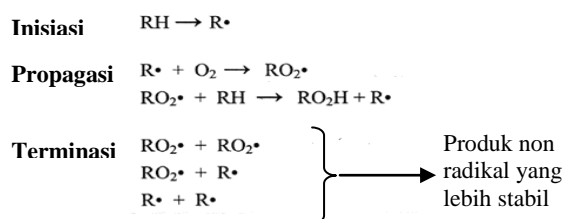
TINJAUAN PUSTAKA

Antioksidan adalah substansi yang dapat menghambat atau mencegah proses oksidasi pada *oxidizable substrate* jika ditambahkan pada konsentrasi rendah. *Oxidizable substrate* dapat berupa bahan makanan yang mengandung karbohidrat, protein, dan lemak^[6]. Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetis (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alam). Ada lima antioksidan sintetis yang penggunaannya menyebar luas di seluruh dunia, yaitu *butylated hydroxyanisole* (*BHA*), *butylated hydroxytoluene* (*BHT*), *tert-butyl hydroquinone* (*TBHQ*), *propyl gallate*, dan tokoferol. Antioksidan tersebut telah diproduksi secara sintetis untuk tujuan komersial^[7]. Di antara kelimanya, antioksidan sintetis yang dikenal sebagai antioksidan paling efektif untuk lemak dan minyak, khususnya minyak nabati, adalah *TBHQ* karena memiliki kemampuan antioksidan yang baik pada saat penggorengan. *TBHQ* berbentuk bubuk putih sampai coklat terang, mempunyai kelarutan cukup pada lemak dan minyak, serta tidak membentuk kompleks warna dengan unsur besi (Fe) dan tembaga (Cu), tetapi dapat berubah menjadi pink dengan adanya basa^[7]. Sebagai *diphenolic antioxidant*, *TBHQ* lebih efektif dalam minyak nabati dibandingkan *BHT* dan *BHA*. Sebagai antioksidan primer, *TBHQ* mendonorkan atom hidrogen pada radikal bebas selama autooksidasi^[6].

Senyawa antioksidan alami pada tumbuhan umumnya berupa senyawa fenolik

atau polifenol yang dapat berupa golongan *flavonoid*, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asam-asam organik polifungsional. Senyawa antioksidan alami polifenolik ini adalah multifungsional dan dapat beraksi sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pengkelat logam, dan peredam terbentuknya singlet oksigen (1O_2)^[7]. Antioksidan alami memiliki beberapa keunggulan dibandingkan antioksidan sintetis karena antioksidan alami bersifat aman bila dikonsumsi. Selain itu, antioksidan alami tidak hanya menghambat reaksi kimia oksidasi yang dapat merusak makromolekul dan dapat menimbulkan berbagai masalah kesehatan, namun juga menambahkan kandungan nutrisi pada minyak goreng^[8]. Contoh antioksidan alami yang dapat digunakan untuk mencegah oksidasi pada minyak kelapa sawit selama proses penggorengan adalah *rosemary* dan *sage*. Aktivitas kedua antioksidan alami ini diteliti oleh Yaakob dan kawan-kawan^[9]. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kedua antioksidan tersebut dapat memperlambat laju oksidasi pada minyak kelapa sawit selama proses penggorengan dengan memberikan harga *PV* sekitar 50% lebih rendah.

Antioksidan yang ditambahkan pada bahan makanan dapat mencegah proses autooksidasi minyak. Mekanisme autooksidasi pada minyak atau lemak diilustrasikan dalam Gambar 1 berikut^[10].

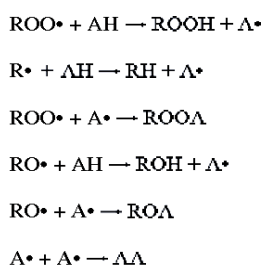


Gambar 1. Mekanisme Autooksidasi Minyak

Inisiator pada tahap inisiasi berupa radikal bebas yang terbentuk melalui berbagai cara, yaitu disosiasi hidroperoksida karena pemanasan, dekomposisi hidroperoksida karena katalis logam, dan *photosensitization*. Radikal bebas dapat pula terbentuk dari proses fotooksidasi. Radikal bebas ini akan menyerang molekul minyak dan menyebabkan *unsaturated fatty acid* kehilangan atom H dan menjadi lipida (alkil) radikal ($R\cdot$). Lipida radikal ini sangat reaktif dan dapat bereaksi dengan triplet oksigen menghasilkan peroksi radikal ($ROO\cdot$). Selama tahap propagasi, peroksi radikal ini bereaksi dengan *unsaturated fatty acid* menghasilkan hidroperoksida ($ROOH$) dan lipida radikal ($R\cdot$) baru. Lipida radikal yang

baru terbentuk ini akan bereaksi dengan oksigen dan kembali menghasilkan peroksi radikal ($\text{ROO}\cdot$) baru. Reaksi *self-catalyzed* oksidasi ini akan terus berulang membentuk siklus oksidasi pada minyak. Reaksi autooksidasi ini baru akan berakhir ketika dua radikal bebas bergabung membentuk produk non radikal yang bersifat stabil pada tahap terminasi^[11].

Berdasarkan fungsinya, ada dua jenis antioksidan, yaitu antioksidan primer dan antioksidan sekunder. Antioksidan primer berperan sebagai *hydrogen donors*, yaitu dengan jalan memberikan atom hidrogen pada radikal peroksida yang terbentuk selama tahap inisiasi. Antioksidan sekunder menjalankan fungsinya sebagai *metal deactivator*, *oxygen scavenger*, dan *reducing agents*^[6]. Perbedaan utama dengan antioksidan primer adalah antioksidan sekunder tidak mengubah radikal bebas menjadi molekul yang lebih stabil. Antioksidan sekunder berperan sebagai *chelator* untuk ion logam, menon-aktifkan *singlet oxygen*, menyerap radiasi ultraviolet, atau berperan sebagai *oxygen scavenger*. Fungsi antioksidan sekunder adalah meningkatkan aktivitas antioksidan primer. Beberapa contoh antioksidan sekunder antara lain: vitamin C (asam askorbat), karotenoid, dan asam sitrat^[6]. Mekanisme penghambatan radikal lipida oleh antioksidan primer seperti terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Reaksi Penghambatan Antioksidan Primer Terhadap Radikal Lipida^[6]

Antioksidan yang ditambahkan pada minyak goreng bertujuan untuk menghambat laju oksidasi^[6], sesuai dengan mekanisme yang terlihat pada Gambar 2. Antioksidan primer (AH) dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida ($\text{R}\cdot$, $\text{ROO}\cdot$) dan mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan ($\text{A}\cdot$) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida^[7]. Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi

maupun propagasi. Radikal-radikal antioksidan ($\text{A}\cdot$) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru. Radikal-radikal antioksidan dapat saling bereaksi membentuk produk non radikal^[7].

Antioksidan sebaiknya ditambahkan ke lipida seawal mungkin untuk menghasilkan efek maksimum. Antioksidan hanya akan benar-benar efektif bila ditambahkan seawal mungkin selama periode induksi. Periode induksi adalah periode awal oksidasi di mana oksidasi lipida masih berjalan secara lambat mencapai tahap oksidasi yang lebih cepat (*rapid accelerated of oxidation*)^[7]. Periode induksi dapat menunjukkan stabilitas minyak di mana periode induksi yang semakin singkat menunjukkan bahwa minyak semakin cepat teroksidasi^[12].

Senyawa antioksidan yang paling banyak terdapat dalam petai adalah polifenol, *flavonoids*, dan vitamin C, di mana ketiganya merupakan senyawa polar dan mudah larut di dalam air^[5]. Polifenol merupakan senyawa turunan fenol yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Antioksidan fenolik biasanya digunakan untuk mencegah kerusakan akibat reaksi oksidasi pada makanan, kosmetik, farmasi, dan plastik. Fungsi polifenol sebagai penangkap dan pengikat radikal bebas dari ion-ion logam yang rusak. *Flavonoids* dan asam *phenolic* berfungsi sebagai pemakan radikal bebas. Pada umumnya, kandungan senyawa *phenolic* dinyatakan dalam *Gallic Acid Equivalent (GAE)*. *Gallic acid* ini banyak digunakan sebagai standar karena stabil dan dapat diperoleh dalam bentuk yang murni, serta harganya yang relatif lebih murah dibandingkan dengan jenis senyawa standar yang lain. Dari hasil penelitian terdahulu diketahui bahwa kandungan senyawa fenolik dalam biji petai sebesar 32,03 mg *gallic acid* per g serbuk petai atau 3,203 g *GAE* per 100 g serbuk petai^[13].

Salah satu cara untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan metode *DPPH* (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals*). Metode ini umumnya digunakan dalam penentuan *Total Antioxidant Capacity (TAC)*^[14]. Dari penelitian sebelumnya diketahui bahwa *TAC* pada petai (*Parkia speciosa*) adalah sebesar 23,88 $\mu\text{mol Trolox Equivalent}$ per g petai^[13]. Metode serapan radikal *DPPH* merupakan metode yang sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah sedikit dengan waktu singkat^[15]. Pengukuran aktivitas

antioksidan sampel dilakukan pada panjang gelombang maksimum 515 nm untuk *DPPH* dengan konsentrasi 50 μM). Adanya aktivitas antioksidan menyebabkan perubahan warna pada larutan *DPPH* dalam metanol yang semula berwarna violet pekat menjadi kuning pucat^[16]. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam persentase inhibisi, yaitu kemampuan antioksidan untuk menghambat aktivitas radikal bebas. Persentase inhibisi ini didapatkan dari perbedaan serapan antara absorbansi *DPPH* dengan absorbansi sampel yang diukur dengan spektrofotometer UV-VIS^[17]. Dari sejumlah penelitian pada tanaman obat ditemukan bahwa banyak tanaman obat yang mengandung antioksidan dalam jumlah besar. Efek antioksidan terutama disebabkan karena adanya senyawa fenol seperti *flavonoid* dan asam fenolat. Biasanya senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan adalah senyawa fenol yang mempunyai gugus hidroksil yang tersubstitusi pada posisi *ortho* dan *para* terhadap gugus $-\text{OH}$ dan $-\text{OR}$ ^[17].

Minyak kelapa sawit diperoleh dari daging buah kelapa sawit (*palm oil*) maupun dari biji kelapa sawit (*palm kernel oil*). Minyak kelapa sawit merupakan salah jenis minyak goreng dengan komposisi asam lemak jenuh yang berimbang di mana asam palmitat dan asam oleat merupakan komponen terbesarnya (39,8% dan 42,5%, secara berurutan). Warna minyak mentah kelapa sawit atau *Crude Palm Oil (CPO)* biasanya kuning kemerahan dengan jumlah karoten yang besar (0,05-0,2%). Warna ini tidak banyak dipengaruhi oleh proses netralisasi alkali, tetapi dengan proses hidrogenasi warna minyak kelapa sawit dapat berubah menjadi warna kuning yang sama dengan minyak nabati lainnya^[6].

Standar Nasional Indonesia (SNI 01-2901-2006) menetapkan mutu minyak goreng kelapa sawit memiliki kadar air sebesar berkisar 0,1-0,5% dan kadar *Free Fatty Acid (FFA)* sebesar 0,1-0,6%^[18], sedangkan parameter kualitas minyak goreng secara umum menetapkan harga *Peroxide Value (PV)* maksimum adalah 10 meq peroksida/kg minyak dan harga *para-Anisidine Value (p-AnV)* maksimum adalah 6^[6].

Kerusakan pada minyak goreng dapat terjadi karena kontak antara minyak goreng dengan oksigen maupun uap air. Kontak antara minyak goreng dengan oksigen menyebabkan terjadinya oksidasi, sedangkan kontak antara minyak goreng dengan uap air menyebabkan terjadinya reaksi hidrolisis, sehingga menimbulkan rasa dan bau tengik pada minyak

tersebut^[6,19]. Kerusakan ini terjadi selama proses di industri, pendistribusian, dan penyimpanan, serta saat digunakan untuk memasak^[3].

Selama proses pemanasan (sebagai simulasi dari proses penggorengan), akan terjadi perubahan struktur fisika-kimia minyak dikarenakan terjadinya reaksi oksidasi minyak dan degradasi asam lemak. Oksidasi pada minyak menyebabkan terbentuknya berbagai senyawa hasil oksidasi lemak berupa senyawa alkohol, aldehida, keton, ester, dan senyawa siklis. Sebagian senyawa hasil dekomposisi minyak terurai dan menguap, sedangkan sebagian lainnya dapat saling berinteraksi membentuk senyawa polimer. Pengukuran kandungan asam lemak bebas (*FFA*) serta produk hasil oksidasi primer dan sekunder (dinyatakan dalam nilai *PV* dan *p-AnV*) pada minyak merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengukur kualitas minyak goreng^[20].

Perubahan fisik pada minyak selama pemanasan/penggorengan umumnya berupa meningkatnya viskositas dan intensitas warna minyak, sedangkan perubahan kimia pada minyak meliputi meningkatnya kadar asam lemak bebas, *carbonyl compound*, dan produk dengan berat molekul yang lebih tinggi (produk hasil polimerisasi), serta penurunan jumlah *unsaturated fatty acid* dan kandungan nutrisi minyak^[21]. Pemanasan memberikan energi aktivasi yang lebih besar pada asam lemak, menyebabkan minyak lebih mudah terdekomposisi menjadi produk volatil dan non-volatil sehingga menurunkan kualitas minyak tersebut^[21,22]. Selain itu, *antioxidative activity* dari antioksidan alami yang terkandung pada minyak seperti tokoferol mengalami penurunan dengan meningkatnya suhu pemanasan^[11].

METODE PENELITIAN

Dalam penelitian ini, bahan alami yang digunakan adalah tongkol jagung dan kulit petai dengan pelarut dalam proses ekstraksi adalah etanol. Limbah tongkol jagung diperoleh dari kantin kampus Kalijudan, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, sedangkan limbah kulit petai diperoleh dari Pasar Keputran Surabaya.

Prosedur penelitian ini dibagi menjadi tiga tahap, yaitu: 1) tahap persiapan ekstrak, 2) analisis ekstrak yang meliputi *yield* ekstrak dan *total phenolic compound (TPC)*, serta 3) uji kualitas minyak goreng kelapa sawit dengan dan tanpa penambahan antioksidan baik alami maupun sintetis. Tahap pertama merupakan

tahap persiapan ekstrak, yang diawali dengan proses pengecilan ukuran untuk masing-masing bahan dan dilanjutkan dengan proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol^[5]. Setelah itu, padatan dipisahkan dengan pelarutnya kemudian pelarut diuapkan untuk mendapatkan serbuk hasil ekstrak. Hasil ekstrak serbuk tongkol jagung maupun kulit petai disimpan dalam lemari es pada suhu 5°C hingga dipergunakan dalam tahap selanjutnya^[5]. Pada tahap ketiga, setiap serbuk ekstrak dianalisis kandungan fenolik (TPC) dan aktivitas antioksidannya. Pada tahap keempat, serbuk ekstrak sebagai antioksidan alami ditambahkan ke dalam minyak goreng kelapa sawit kemudian dipanaskan dan diuji kualitas minyak goreng dengan parameter uji *Peroxide Value (PV)*, kadar *para-Anisidine Value (p-AnV)*, dan kadar *Free Fatty Acid (FFA)*. Sebagai kontrol, digunakan minyak goreng kelapa sawit tanpa penambahan antioksidan, dan sebagai pembanding adalah minyak goreng kelapa sawit dengan penambahan antioksidan sintetis (*TBHQ*).

Tahap Persiapan Ekstrak

Bahan baku berupa tongkol jagung kering dan kulit petai terlebih dahulu dipotong kecil-kecil (ukuran 1 mm x 1 mm) dan dijadikan serbuk sebelum dipakai dalam proses ekstraksi. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut etanol dengan perbandingan jumlah solid terhadap pelarut adalah 1 : 10 (b/v)^[5] pada kecepatan pengadukan 500 rpm sampai diperoleh *yield* ekstrak konstan. Larutan filtrat didinginkan lalu disaring dengan kertas Whatman 110 mm. Filtrat dipekatkan dengan vakum oven pada suhu 50°C pada tekanan rendah (600 mmHg) hingga diperoleh serbuk ekstrak. Terhadap masing-masing sampel ekstrak dilakukan analisis *yield* ekstrak, *Total Phenolic content (TPC)*, dan aktivitas antioksidan. Untuk mengetahui potensi senyawa fenolik dalam ekstrak tongkol jagung dan kulit petai sebagai antioksidan alami minyak nabati, maka ekstrak yang diperoleh selanjutnya diaplikasikan dalam simulasi proses penggorengan dengan minyak goreng kelapa sawit.

Penentuan Total Phenolic Content (TPC)

Dalam penelitian ini, analisis *Total Phenolic Content (TPC)* dilakukan berdasarkan *Folin-Ciocalteu Micro Test Method* menggunakan reagen *Folin-Ciocalteu* yang absorbansinya diukur pada panjang gelombang

765 nm^[23,24,25]. Reaksi yang terjadi antara reagen *Folin-Ciocalteu* dengan senyawa pereduksi belum diketahui, namun diasumsikan bahwa *phospho-molibdic tungstate* dalam reagen *Folin-Ciocalteu* bereaksi dengan senyawa pereduksi membentuk senyawa kompleks yang mengubah warna kuning menjadi biru^[3]. Pada umumnya, kandungan senyawa fenolik dinyatakan dalam *Gallic Acid Equivalent (GAE)*. *Gallic acid* banyak digunakan sebagai standar karena stabil dan dapat diperoleh dalam bentuk yang murni, serta harganya yang murah dibandingkan dengan jenis senyawa standar yang lain^[23].

Analisis sampel ekstrak dilakukan dengan menimbang sampel ekstrak sebanyak 1 mg dan dilarutkan ke dalam 1 mL metanol. Larutan dicampur dengan 5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* 1:10 (v/v), dan ditambahkan 4 mL Natrium karbonat 7,5% (w/v). Larutan dibiarkan selama 30 menit pada suhu ruang lalu diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 765 nm.

Kadar senyawa fenolik dapat dihitung dengan persamaan:

$$C = \frac{cV}{m} \quad (1)$$

dengan:

C = konsentrasi total fenolik (mg *GAE/g* ekstrak)

c = konsentrasi *gallic acid* (mg/L)

V = volume larutan ekstrak serbuk kulit petai dalam metanol (10 mL)

m = massa ekstrak serbuk kulit petai (g)

Uji Kualitas Minyak

Pada uji kualitas minyak, minyak nabati yang digunakan adalah minyak goreng kelapa sawit karena jenis minyak goreng ini yang paling banyak digunakan oleh masyarakat.

Ke dalam sampel minyak goreng kelapa sawit sebanyak 25 mL ditambahkan antioksidan sintetis (*TBHQ*) dengan konsentrasi 200 mg/L. Konsentrasi ini ditentukan berdasarkan batas maksimum yang diijinkan untuk penambahan antioksidan sintetis pada minyak goreng^[3,6]. Dalam uji kualitas minyak, sampel dipanaskan pada suhu 60°C selama 48 jam dan 180°C selama 3 jam. Pemilihan suhu pemanasan 60°C mengikuti prosedur *Schaal oven test* yang merupakan *accelerated stability test* sebagai simulasi penyimpanan minyak goreng. Hasil *accelerated stability test* ini menunjukkan korelasi yang baik dengan *actual shelf stability* pada minyak yang mengandung antioksidan^[26].

Proses pemanasan pada suhu 180°C merupakan simulasi proses penggorengan pada umumnya.

Sampel minyak selanjutnya dianalisis *Peroxide Value (PV)*, *para-Anisidine Value (p-AnV)*, dan kadar *Free Fatty Acid (FFA)*. Langkah di atas diulangi lagi di mana minyak goreng kelapa sawit diberi penambahan antioksidan alami dari ekstrak tongkol jagung dan ekstrak kulit petai dengan konsentrasi *phenolic* yang ekuivalen dengan konsentrasi penambahan *TBHQ* dalam minyak. Selain itu, juga dilakukan proses pemanasan tanpa adanya penambahan antioksidan pada minyak goreng sebagai kontrol.

Uji *Peroxide Value (PV)* (AOACS, 1997)^[27]

Peroxide Value (PV) menyatakan jumlah produk hasil oksidasi primer berupa senyawa peroksida dan hidroperoksida yang diukur berdasarkan banyaknya iodida yang dilepaskan dari kalium iodida pada titrasi iodometri^[28]. *PV* umumnya digunakan untuk menyatakan tingkat kerusakan minyak yang dinyatakan sebagai miliekuivalen peroksida tiap kg minyak. Pemanasan minyak dilakukan sampai nilai *PV* dari minyak kontrol mencapai 10 mek peroksida/kg minyak goreng, karena harga *PV* di atas 10 mek peroksida/kg minyak untuk minyak goreng secara umum menunjukkan bahwa minyak goreng sudah *rancid*^[28].

Sampel minyak goreng ditimbang sebanyak 2,5 g. Campuran asam asetat dan kloroform (rasio = 3:2) ditambahkan sebanyak 15 mL, kemudian dikocok hingga larut. Larutan KI jenuh ditambahkan sebanyak 0,5 mL ke dalam campuran kemudian didiamkan selama 1 menit sambil sesekali dikocok, lalu ditambahkan 15 mL akuades. Campuran dititrasi dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \pm 0,05 \text{ N}$ sambil digoyang hingga warna kuning campuran hampir hilang. Larutan amilum 1% ditambahkan sebanyak 0,5 mL pada campuran dan titrasi dilanjutkan hingga warna biru menghilang. Nilai *Peroxide Value (PV)* dapat dihitung menggunakan persamaan:

$$PV = \frac{\text{mL Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times \text{N Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 1000}{\text{Berat Sampel (g)}} \quad (2)$$

Uji *Para-Anisidine (p-AnV)*^[29]

Uji *p-AnV* merupakan metode untuk mengukur jumlah aldehida yang terbentuk (terutama 2-alkenal dan 2,4-alkadienal, sebagai produk oksidasi sekunder hasil dekomposisi hidroperoksida) berdasarkan reaksi antara reagen *para-Anisidine* dengan komponen aldehida tersebut. Senyawa aldehida dan keton

yang terbentuk ini menyebabkan timbulnya bau tengik pada minyak goreng^[22]. Reaksi ini berlangsung pada kondisi asam dan menghasilkan warna kekuningan yang terukur pada panjang gelombang 365 nm^[29].

Sampel minyak goreng kelapa sawit ditimbang sebanyak 1 g dalam *iodine flask* (1) kemudian ditambahkan *iso-octane* sampai volume larutan 25 mL dan dikocok hingga homogen lalu diukur absorbansinya (*Ab*). Sebanyak 5 mL sampel dari langkah sebelumnya dipipet dan dimasukkan ke dalam *iodine flask* (2) kemudian ditambahkan 1 mL larutan *p-Anisidine* dan direaksikan selama 10 menit. Absorbansi larutan selanjutnya diukur pada panjang gelombang 365 nm (*As*). *iso-octane* sebanyak 5 mL dipipet dan dimasukkan ke dalam *iodine flask* (3) kemudian ditambahkan 1 mL larutan *p-Anisidine* dan direaksikan selama 10 menit. Absorbansi larutan selanjutnya diukur pada panjang gelombang 365 nm (*blanko-As*) dan nilai *p-AnV* dihitung dengan persamaan:

$$p\text{-AnV} = \frac{25 \times (1,2As - Ab)}{\text{berat sampel (g)}} \quad (3)$$

Uji *Free Fatty Acid (FFA)* (AOACS, 1997)^[27]

Free fatty acid (FFA) merupakan hasil hidrolisis trigliserida yang mudah teroksidasi sehingga menyebabkan ketengikan (*rancidity*) pada minyak. Penentuan kadar *FFA* dapat dilakukan dengan cara titrasi menggunakan basa dan indikator *phenolphthalein* hingga terjadi perubahan warna dari tidak berwarna menjadi merah muda. Pada penelitian ini, perhitungan kadar *FFA* didasarkan pada asam oleat karena asam oleat merupakan komponen asam lemak tak jenuh terbanyak pada minyak goreng kelapa sawit^[28], dan dinyatakan sebagai banyaknya asam lemak bebas yang terkandung dalam 1 gram minyak. Semakin tinggi kadar *FFA*, maka kualitas minyak goreng semakin rendah^[7].

Sampel minyak goreng kelapa sawit ditimbang dengan teliti sebanyak sekitar 5 gram dalam *iodine flask* kemudian ditambahkan 25 mL alkohol 96% netral. *Iodine flask* dan campuran dipanaskan menggunakan *water bath* selama sekitar 10 menit (larutan minyak mendidih). Campuran didinginkan kemudian ditambahkan 2 tetes indikator *phenolphthalein*. Campuran selanjutnya dititrasi dengan larutan $\text{KOH} 0,01 \text{ N}$ sampai warna larutan tepat merah jambu.

FFA dapat dihitung dengan persamaan (4) berikut ini :

$$\% \text{ FFA} = \frac{\text{ml KOH} \times N_{\text{KOH}} \times \text{BM}_{\text{KOH}}}{\text{berat sampel (g)} \times 1000} \times \frac{282}{\text{BM}_{\text{KOH}}} \times 100\% \quad (4)$$

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Ekstrak tongkol jagung dan kulit petai diperoleh dari proses ekstraksi pelarut dengan etanol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin lama waktu ekstraksi *yield* ekstrak semakin meningkat hingga pada akhirnya cenderung konstan. Hal ini disebabkan waktu kontak antara pelarut dengan bahan yang akan diekstrak semakin lama sehingga pelarut dapat mengekstrak senyawa fenolik semakin banyak, baik yang terdapat di permukaan maupun di bagian dalam partikel solid. *Yield* ekstrak beserta *TPC* yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. *Yield* dan Kandungan Fenolik Ekstrak

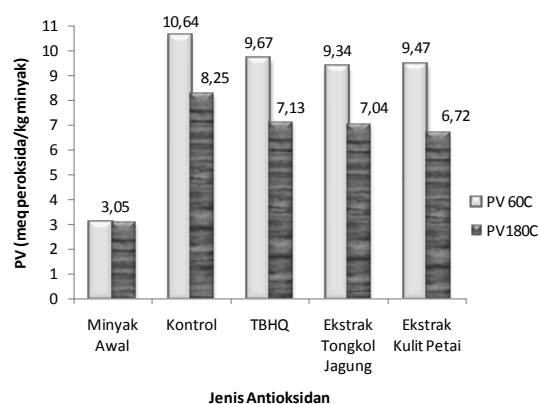
| Bahan Baku | Yield Ekstrak (%) | <i>TPC</i> (g GAE/100 g bahan baku) |
|----------------|-------------------|-------------------------------------|
| Tongkol Jagung | 15,02 | 0,2838 |
| Kulit Petai | 10,31 | 2,7237 |

Kadar *TPC* ekstrak tongkol jagung yang diperoleh dalam penelitian ini sebesar 0,2838 g GAE per 100 g serbuk tongkol jagung atau setara dengan 1,8894 g GAE per 100 g ekstrak tongkol jagung. Harga *TPC* ini berbeda dengan kadar senyawa *phenolic* dalam ekstrak tongkol jagung yang diperoleh pada penelitian terdahulu oleh Sultana dan kawa-kawan, yaitu 3,2 g GAE per 100 g ekstrak^[6]. Untuk kulit petai, *TPC* yang diperoleh sebesar 2,7237 g GAE per 100 g kulit petai, sedangkan pada penelitian sebelumnya kandungan *TPC* pada petai umumnya sebesar 3,2030 g GAE per 100 g serbuk petai^[13]. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan jenis tongkol jagung yang digunakan maupun kondisi ekstraksi yang meliputi suhu (suhu ruang) dan metode ekstraksi. Jika dilihat dari kandungan *phenolic* total dalam bahan baku, maka efisiensi ekstraksi yang dicapai adalah 90,45%.

Ekstrak tongkol jagung dan kulit petai yang telah diperoleh dari proses ekstraksi selanjutnya diaplikasikan dalam proses pemanasan minyak goreng kelapa sawit. Proses pemanasan dilakukan pada variasi suhu 60°C selama 48 jam dan suhu 180°C selama 3 jam^[1]. Minyak kemudian diuji kualitasnya yang dinyatakan dalam parameter *Peroxide Value* (*PV*), *para-Anisidine Value* (*p-AnV*), dan *Free*

Fatty Acid (*FFA*). Pada penelitian ini juga digunakan minyak goreng kelapa sawit tanpa penambahan antioksidan sebagai kontrol. Sebagai pembanding, digunakan minyak goreng kelapa sawit dengan penambahan antioksidan sintetis *TBHQ*.

Hasil uji kualitas minyak untuk berbagai jenis antioksidan disajikan dalam Gambar 3, 4 dan 6. Istilah minyak awal digunakan untuk sampel minyak kelapa sawit mula-mula (tanpa penambahan antioksidan dan tidak mengalami proses pemanasan), sedangkan istilah kontrol digunakan untuk sampel minyak kelapa sawit tanpa penambahan antioksidan tetapi mengalami proses pemanasan. Hasil uji *PV* untuk berbagai jenis antioksidan dapat dilihat pada Gambar 3.



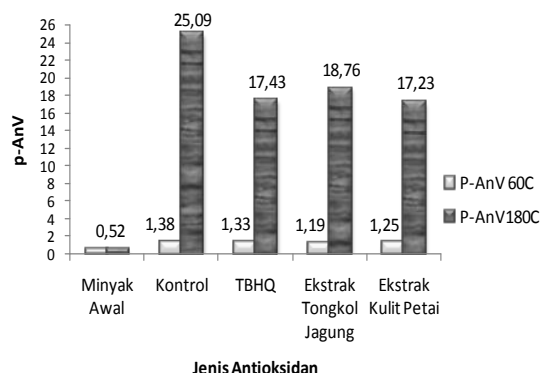
Gambar 3. *Peroxide Value* (*PV*) Minyak Goreng Kelapa Sawit pada Suhu Pemanasan 60°C dan 180°C

Dari Gambar 3 terlihat bahwa pada kedua suhu pemanasan (60°C dan 180°C), baik minyak kontrol maupun minyak dengan penambahan antioksidan, mengalami peningkatan nilai *PV*. Proses pemanasan mempercepat reaksi oksidasi, reaksi dekomposisi produk oksidasi primer, dan reaksi hidrolisis minyak goreng kelapa sawit untuk semua sampel. Antioksidan alami menunjukkan kemampuan penghambatan oksidasi primer yang lebih baik dibandingkan dengan antioksidan sintetis *TBHQ*, dan di antara ketiga jenis antioksidan, antioksidan dari ekstrak kulit petai menunjukkan kemampuan penghambatan oksidasi yang terbaik. Hal ini terlihat dari lebih rendahnya nilai *PV* sampel minyak dengan penambahan ekstrak kulit petai.

Pada proses pemanasan dengan suhu yang lebih tinggi, laju reaksi pembentukan produk radikal bebas akan semakin cepat, sehingga oksidasi berjalan lebih cepat. Peroksida hasil oksidasi primer selanjutnya terurai menjadi produk oksidasi sekunder. Hal

ini menyebabkan nilai *p-AnV* untuk semua sampel minyak pada pemanasan suhu 180°C lebih tinggi daripada suhu 60°C sebagaimana terlihat pada Gambar 4.

Pada suhu pemanasan yang lebih tinggi tidak hanya meningkatkan laju oksidasi minyak goreng, melainkan juga menyebabkan terbentuknya polimer. Radikal bebas yang terbentuk selama proses oksidasi (autooksidasi) saling bereaksi untuk membentuk dimer, trimer, dan polimer^[6]. Terdapat dua jenis polimer yang terbentuk pada minyak goreng, yaitu *oxidative polymer* dan *thermal polymer*. Molekul *oxidative polymer* diduga mengandung oksigen dengan kandungan yang lebih tinggi dibandingkan molekul *triacylglycerol*, sehingga mempercepat proses oksidasi. Oksidasi akan tetap terjadi meskipun minyak goreng telah mengalami proses *nitrogen flushed*. Proses oksidasi yang diakibatkan oleh *oxidative polymer* ini disebut *hidden oxidation*. *Thermal polymer* terbentuk karena pengaruh suhu pemanasan, tidak bergantung pada kandungan oksigen pada minyak goreng, dan dapat menurunkan kualitas minyak goreng^[6].

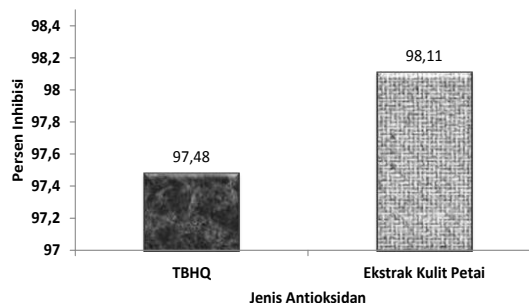


Gambar 4. Nilai *p-AnV* Minyak Goreng Kelapa Sawit pada Suhu Pemanasan 60°C dan 180°C

Seiring dengan nilai *PV*, *p-AnV* sampel minyak dengan penambahan ekstrak kulit petai memiliki nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan sampel minyak lainnya. Dengan demikian, ekstrak kulit petai lebih efektif untuk menghambat oksidasi pada minyak goreng selama proses pemanasan berlangsung dibandingkan dengan antioksidan ekstrak tongkol jagung maupun antioksidan sintetis *TBHQ*.

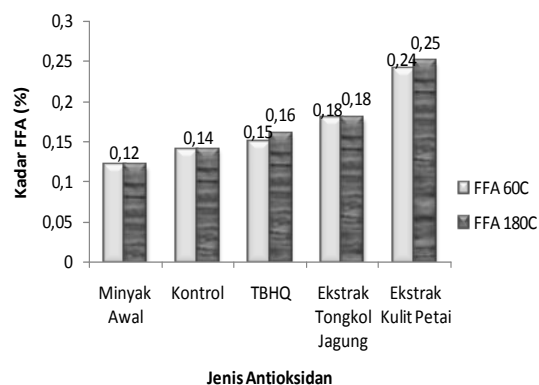
Kemampuan menghambat proses oksidasi minyak oleh antioksidan alami sejalan dengan hasil uji aktivitas antioksidan di mana ekstrak antioksidan alami memiliki persentase inhibisi terhadap radikal *DPPH* yang lebih tinggi dibandingkan dengan *TBHQ*. Persentase

inhibisi ini diperoleh dari perbedaan serapan antara absorban *DPPH* dengan absorban sampel yang diukur dengan spektrofotometer UV-VIS. Contoh perbandingan aktivitas antioksidan ditunjukkan pada Gambar 5. Semakin besar persentase inhibisinya, maka semakin besar pula kemampuan menangkap radikal bebas.



Gambar 5. Aktivitas Antioksidan *TBHQ* dan Ekstrak Kulit Petai dalam Persen Inhibisi terhadap Radikal Bebas

Pada Gambar 6 ditunjukkan bahwa kadar *FFA* dari ekstrak tongkol jagung maupun kulit petai memiliki harga yang lebih besar (98%) dibandingkan dengan antioksidan sintetis *TBHQ* (97%). Hal ini diakibatkan oleh kandungan air pada kandungan air pada ekstrak (2,98% dan 3,90% untuk ekstrak tongkol jagung dan kulit petai, secara berurutan) yang lebih besar daripada kandungan air pada antioksidan sintetis *TBHQ* (2,47%).



Gambar 6. Kadar *FFA* Minyak Goreng Kelapa Sawit pada Suhu Pemanasan 60°C dan 180°C

Kadar *FFA* minyak dengan penambahan ekstrak tongkol jagung lebih rendah daripada ekstrak kulit petai karena kadar air dalam ekstrak tersebut lebih kecil, sehingga memperkecil kemungkinan terjadinya proses hidrolisis minyak. Proses hidrolisis juga dapat disebabkan karena adanya kandungan air dalam udara serta dalam minyak.

Ditinjau dari nilai *PV* dan *p-AnV* pada pemanasan minyak goreng kelapa sawit dengan suhu 60°C dan 180°C, antioksidan alami ekstrak tongkol jagung dan kulit petai memiliki kemampuan yang lebih baik dalam menghambat reaksi oksidasi pada minyak dibandingkan dengan antioksidan sintetis *TBHQ*. Akan tetapi, jika ditinjau dari nilai persentase *FFA*, maka antioksidan sintetis *TBHQ* memiliki kemampuan yang lebih baik untuk menghambat hidrolisis pada minyak dibandingkan dengan antioksidan alami. Oksidasi dan hidrolisis merupakan penyebab kerusakan pada minyak. Namun, oksidasi lebih berpengaruh terhadap kerusakan pada minyak jika dibandingkan dengan hidrolisis^[6] karena hidrolisis merupakan reaksi yang mendukung terjadinya oksidasi pada minyak^[30]. Asam lemak bebas yang dihasilkan dari reaksi hidrolisis mempercepat oksidasi pada minyak goreng dengan cara menurunkan *surface tension* minyak sehingga meningkatkan laju difusi oksigen ke dalam minyak^[21].

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak tongkol jagung dan kulit petai berpotensi untuk dikembangkan sebagai antioksidan alami minyak goreng kelapa sawit. Kedua ekstrak memiliki kemampuan menghambat proses oksidasi yang lebih baik dibandingkan dengan antioksidan sintetis *TBHQ*, di mana nilai *PV* dan *p-AnV* lebih rendah, serta *TAC* (dalam persentase inhibisi) lebih tinggi dari antioksidan sintetis *TBHQ*.

Saran

Untuk mendapatkan hasil penghambatan yang lebih baik, antioksidan alami dapat ditambahkan pada minyak goreng dengan konsentrasi lebih daripada 200 mg/L, karena hingga saat ini belum ada batas legal penambahan antioksidan alami ke dalam minyak goreng. Akan tetapi, perlu diwaspadai terjadinya peningkatan kadar *FFA* karena adanya kandungan air dalam ekstrak dapat mempercepat laju reaksi hidrolisis. Selain itu, perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mempelajari efek penggunaan antioksidan alami dalam proses penggorengan pada bahan makanan seperti: tekstur dan rasa makanan, serta prospek antioksidan alami tongkol jagung dan kulit petai di masa mendatang khususnya di industri makanan dan obat-obatan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Dengi, Y. K., dan Mulyandasari, V., *Pemanfaatan Limbah Tongkol Jagung sebagai Antioksidan Alami untuk Minyak Goreng Kelapa Sawit*, Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya, 2009
- [2] Iqbal, S., Anwar, F., "Antioxidant Properties and Components of Some Commercially Available Varieties of Rice Bran in Pakistan" Hlm. 265-272, 2005
- [3] Sultana, B., Anwar, F., dan Przybylski, R., "Antioxidant Potential of Corn Cob Extracts for Stabilization of Corn Oil Subjected To Microwave Heating", *Food Chemistry*, Vol. 104, No. 3, Hlm. 997-1005, 2007
- [4] Fauziah, N., *Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Petai Cina (Leucaena glauca, Benth) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar*, 2008, Diakses 12 Agustus 2010
- [5] Amarnath, B., *A Study on Antioxidant Nature of Petai*, Department of Chemistry National University of Singapore, 2004
- [6] Shahidi, F., *Bailey's Industrial Oils and Fat Products*, Edisi Keenam, John Wiley and Sons Inc. Publication, New York, 2005
- [7] Trilaksana, W., *Antioksidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan Peran Terhadap Kesehatan*, 2003
- [8] Bera, D. L., Nag, A., "Studies on a Natural Antioxidant for Stabilization of Edible Oil and Comparison with Synthetic Antioxidant", *Journal of Food Engineering*, 2005
- [9] Yaakob, B., Man, C.I.J., "Effect of Rosemary and Sage Extracts on Frying Performance of Refined, Bleached and Deodorized (RBD) Palm Olein During Deep-Fat Frying", *Food Chemistry*, 2000
- [10] Gunstone, F. D., *Lipid Glossary 2*, Vol. 2, PJ Barnes and Associates, 2000
- [11] Gunstone, F.D., *The Chemistry of Oils and Fats: Sources, Composition, Properties and Uses*, Blackwell Publishing Ltd., 2004
- [12] Kowalski, Boleslaw, K.R., Dorota Kowalska, Witold Bekas, "Determination of The Oxidative Stability of Vegetable Oils by Differential Scanning Calorimetry and Rancimat Measurements", *J. Lipid Sci. Technol.*, Vol. 106, 2004
- [13] Wong, S. P., Leong, L. P., dan Koh, J. H. W., *Antioxidant Activities of Aqueous Extracts of Selected Plants*, National University of Singapore, Singapore, 2005

- [14] Maurya, Sunita dan D. Singh, "Quantitative Analysis of Total Phenolic Content in Adhatoda Vasica Nees Extracts", *International Journal of PharmTech Research Coden*, Vol.2, No. 4, Hlm. 2403-2406, 2010
- [15] Hanani, E., Mun'im, A., dan Sekarini, R., "Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons Callyspngia SP dari Kepulauan Seribu", *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Hlm. 127-133, 2005
- [16] Permana, D., Lajis, N., Abas, F., Othman, A. G., Ahmad, R., Kitajama, M., Takayama, H., Aimi, N., "Antioxidative Constituents of Hedotis Diffusa Wild", *Natural Product Sciences*, Vol. 9, No. 1, Hlm. 7-9, 2003
- [17] Andayani, Regina, M., dan Lisawati, Y., "Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total, dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum* L)", *Sains dan Teknologi Farmasi*, Vol. 13, No. 1, Hlm. 31-37, 2008
- [18] BSN, *SNI Minyak Kelapa Sawit*, BSN Indonesia, Jakarta, 2006
- [19] Hasenhuettl, G. L., *Fats and Fatty Oils*, John Wiley and Sons, Inc., New York, 2005
- [20] Budiyanto, D. S., Efendi, Z., *Perubahan Kandungan β -Karoten dan Kandungan Asam Lemak Bebas Minyak Sawit Merah Selama Pemanasan*, Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II Universitas Lampung, Lampung, 2008
- [21] Akoh, D. B. M. C. C., *Food Lipids in Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. 2001
- [22] Hart, H. Dan Hart, D. J., *Kimia Organik*. Edisi kesebelas, Suatu Kuliah Singkat, editor Safitri, A., Houghton Mifflin Company, 2003
- [23] Waterhouse, A., *Folin-Ciocalteu Micro Method for Total Phenol in Wine*. 1999.
- [24] Pourmorad, F., H.S.J.a.S.N., "Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of Some Selected Iranian Medicinal Plants", *African Journal of Biotechnology*, Vol. 5, No. 11, Hlm, 1142-1145, 2006
- [25] Savitree, M., Nittaya, S. L., dan Worapan, S., "Radical Scavenging Activity and Total Phenolic Content of Medical Plants Used in Primary Health Care", *Journal of Pharm. Sci.*, Vol. 9, No. 1, Hlm. 32-45, 2004
- [26] Company, E.C., *Schaal Oven Storage Stability Test*. 1997.
- [27] AOACS, *Official Methods and Recommended Practices of the Americal Oil Chemical Society*, AOCS Press: Champaign, IL, New York, 1997
- [28] Roshetko, J. M., Wiyono, S. R., Prastowo, N. H., "Evaluating Indigenous Practices for Petai (*Parkia speciosa* Hassk.) Seed Germination: The Effect of Seed Shelling and Seed Cutting on Germination, Growth, and Survival", *Small-scale Forestry*, Vol. 7, Hlm. 285-293, 2008
- [29] Wrolstad, R.E., *Handbook of Food Analytical Chemistry, Waters, Proteins, Enzymes, Lipids, and Carbohydrates*, 2005
- [30] Choe, E., "Comprehensive Reviews in Food Science and Technology", *Food Science and Technology*, Vol. 5, 2006