

## PENGARUH SUPLEMENTASI ISOLAT PROTEIN SORGHUM TERHADAP SIFAT KIMIA, BIOLOGIS DAN ORGANOLEPTIK BISKUIT SORGHUM

*Effect of Supplementation Isolate Sorghum Protein to Chemical, Biological and Organoleptic Properties of Biscuits Sorghum*

Fatim Illaningsy<sup>1)</sup>, Sri Istini<sup>1)</sup>, Sri Peni W<sup>1)</sup>, Iim Sukarti<sup>1)</sup>, Fajarwati Utami<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Teknologi Bioindustri BPPT, Gedung II BPPT Lantai 15

Jalan M.H Thamrin No 8 - Jakarta,

E-mail: fatim\_illaningsy@yahoo.com

### ABSTRACT

The aims of the research were to determine the potential of isolate sorghum protein as ingredient functional food which focused on the effect of supplementation isolate sorghum protein to chemical, biological and organoleptic properties of biscuits sorghum. First phase of the application was made biscuit formula with a mixture of various wheat flour and sorghum flour (0: 100, 0:75, 0:50 and 0:25). The best formula biscuit from organoleptic test was added isolate sorghum protein 5, 10 and 15%, then the biscuit were analyzed of the chemical, biological and organoleptic properties. The results showed that the panelists preferred the formula biscuits with 25% sorghum flour. Chemical analysis showed that biscuit with sorghum isolate protein increase protein, amino acid, phenolic, and antioxidant activity. There were characteristic of biscuits with 15% isolate sorghum protein 3.8% fiber, 11.87% protein, 7.96% amino acid, 0.808 mg TAE/mg phenolic and 40.675 g/g BHA antioxidant activity. Supplementation of isolate shorgum protein increase the fiber, antioxidants and proteins content. Further more could be applied in to functional food products, such as food products for hypoglycemic, antioxidant, diabetes mellitus or for KEP patients.

**Keywords:** isolate sorghum protein, sorghum, biscuits, antioxidants, functional food

### PENDAHULUAN

Isolat protein mempunyai peran yang sangat penting dalam memberikan karakteristik fungsional dari suatu produk pangan dan berbagai olahan pangan lainnya, antara lain *water holding capacity*, solubilitas, daya emulsi, gelasi dan karakteristik buih (Kinsella, 1976). Penelitian terkait produksi dan pemanfaatan isolat protein dari tanaman saat ini sedang banyak dikembangkan karena ingin mengurangi penggunaan protein hewani sebagai sumber isolate protein. Hal ini terkait dengan isu peningkatan populasi manusia yang sangat tinggi, berkorelasi dengan meningkatnya permintaan sumber protein dari hewani (Henry dan Kettlewell, 1996).

Sorghum (*Sorghum bicolor*) merupakan sereal ke-5 yang populer dan banyak dikonsumsi masyarakat di dunia,

terutama di daerah asalnya Afrika. Di Indonesia sendiri, sorghum merupakan tanaman sereal yang cukup potensial dikembangkan di Indonesia, terutama karena kemampuan tumbuhnya di lahan kering dan kritis. Nilai gizi sorghum sendiri pun cukup memadai sebagai bahan pangan utama, yaitu mengandung 83% karbohidrat, 3,05% lemak dan 10% protein (basis kering). Kandungan protein sorghum cukup tinggi dibandingkan sereal lainnya seperti beras (7%) dan gandum (8,9%). Demikian pula dengan kandungan asam aminonya tidak kalah dengan bahan makanan nabati lainnya, terutama kandungan leusin dan alanin (Sirappa, 2003). Taylor *et al.* (2006) dan Awika *et al.* (2003) menyatakan bahwa sorghum merupakan sumber pangan fungsional yang sangat potensial untuk dikembangkan dalam berbagai produk makanan dan minuman. Hal ini

dikarenakan sorghum terbukti mengandung komponen fenolik dan antioksidan yang cukup tinggi.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa sorghum juga berpotensi sebagai sumber  $\beta$ -glukan dan mempunyai aktivitas sebagai immunomodulator dengan kemampuannya meningkatkan proliferasi sel imun manusia (Salimi *et al.*, 2011). Tepung sorghum dan proteinnya pun telah banyak dikaji dan diaplikasikan untuk pangan karena aman bagi penderita “celiac disease” karena bebas kandungan gluten (Stonestreet, 2010). Di bidang bioindustri, sorgum dan proteinnya dapat diaplikasikan dalam industri asam laktat, etanol dan plastik biodegradable (Bean, 2006).

Secara keseluruhan penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek suplementasi isolat protein sorghum terhadap sifat kimia, fungsional, nutrisi, biologis dan organoleptik dari biskuit sorghum.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Sorghum yang dipilih adalah sorghum varietas Numbu, diperoleh dari Balai Besar Teknologi Pati, BPPT di Lampung. Biji sorghum dihaluskan hingga menjadi tepung menggunakan *disc mill* dan diayak dengan ayakan 60 mesh. Tepung disimpan di suhu 4°C sebelum digunakan. Kandungan protein tepung sorghum Numbu sebesar 9,52%, kandungan total fenol 0,376 mg TAE/mg ekstrak, aktivitas antioksidan 1919,952  $\mu$ g ekuivalen BHA/g sampel dan indeks proliferasi sel sebesar 240,74%.

### Rancangan Penelitian

#### Preparasi isolat protein dari sorghum

Protein diekstrak menurut metode yang dijelaskan oleh Alu'datt (2011) yang telah dimodifikasi, dari 10 g tepung sorghum bebas lemak dilarutkan dalam 100 ml akuades dan diatur pada pH 11

menggunakan NaOH 2N sambil diaduk selama 1 jam pada suhu ruang, lalu larutan disentrifuse dengan kecepatan 8000 rpm, 20 menit. Supernatan yang terkumpul diatur pada pH 4,6 menggunakan HCl 0,1 N. Protein yang mengendap didapatkan setelah disentrifuse 8000 rpm, 20 menit, lalu dikeringbekukan untuk analisis lebih lanjut. Protein yang didapat selanjutnya disebut Isolat Protein Sorghum (ISP sorghum).

#### Analisa sifat fungsional ISP sorghum (Budijanto *et al.*, 2011)

a. *Bulk density* (Okezie dan Bello, 1988 dalam Budijanto *et al.*, 2011)

Masukkan sampel dalam gelas ukur 10 ml yang telah diketahui beratnya. Lalu ketuk-ketuk di meja lebih dari 30 kali hingga tidak ada rongga ketika sampel ditempatkan menjadi 10 ml. Timbang gelas ukur dan sampel.

$$P \left( \frac{g}{ml} \right) = \frac{\text{beratsampel (g)}}{\text{volume (ml)}}$$

b. Daya serap air

Sebanyak 1 g sampel ditimbang dan ditambahkan 10 ml akuades dalam tabung sentrifuse, vorteks 2 menit, diamkan 1 jam pada suhu ruang, lalu disentrifuse 3000 rpm, 25 menit. Filtrate dituang dalam gelas ukur 10 ml secara hati-hati, lalu ukur volumenya.

$$\text{Daya serap air (ml air per g sampel)} = \frac{\text{vol. filtrat (ml)}}{W \text{ sampel (g)}}$$

c. Daya serap minyak

Sebanyak 0,5 g sampel ditimbang dan dilarutkan dalam 3 ml minyak wijen, lalu divorteks 2 menit. Setelah didiamkan di suhu kamar, larutan disentrifuse pada kecepatan 3000 rpm selama 25 menit. Supernatan yang ada dituang ke gelas ukur 10 ml, lalu volume minyak bebas diukur.

$$\text{Daya serap minyak (ml minyak per g sampel)} = \frac{\text{vol. filtrat (ml)}}{W \text{ sampel (g)}}$$

d. Kapasitas dan stabilitas emulsi

Sebanyak 0,5 g sampel dilarutkan dalam 25 ml air, lalu pH diatur hingga pH 8 sambil diaduk dengan magnetic stirrer selama 5 menit. 25 ml larutan sampel selanjutnya dilarutkan dalam 25 minyak wijen dan blender selama 1 menit, selanjutnya disentrifuse pada kecepatan 3000 rpm, 10 menit. Selanjutnya volume emulsi pada jam ke-0 diukur dan dicatat. Selanjutnya emulsi disimpan dalam suhu ruang dan dilakukan pengukuran volume emulsi secara berkala, pada jam ke- 0,5; 1 ; 2 ; 4 dan 6.

$$\text{kapasitas emulsi} = \frac{\text{vol. campuran teremulsi}}{\text{vol. total dalam tabung}} \times 100\%$$

e. Kapasitas dan stabilitas buih

Sebanyak 2 g sampel dilarutkan dalam 100 ml akuades dan dihomogenkan dengan magnetic stirrer selama 1 menit. Larutan tersebut kemudian diatur pada pH 8 dan dikocok menggunakan waring blender selama 2 menit. Volume buih sebelum dan sesudah dikocok dicatat, kemudian kapasitas buih dihitung dengan persamaan berikut:

$$\text{kapasitas buih (\%)} = \frac{V_{BSD}}{V_{alp}} \times 100\%$$

$V_{bsd}$  = volume buih setelah dikocok

$V_{alp}$  = volume awal larutan protein

Studi tentang stabilitas buih diamati volume buih mulai jam ke-0; 0,5; 1; 1,5; 2; 3 dan 4 jam, kemudian dibuat kurva stabilitas buih terhadap waktu.

f. Kekuatan gel

Pada analisa ini dibuat suspensi sampel dengan variasi konsentrasi 7,5 ; 10 ; 12,5 – 15%, lalu diatur pH suspense mencapai pH 8. Sebanyak 3 ml suspense dipipet dan dimasukkan dalam tabung lalu dimasukkan dalam penangas air pada suhu 100°C, selama 15 menit. Selanjutnya tabung dialiri dengan air mengalir hingga mencapai suhu ruang, kemudian disimpan

dalam refrigerator bersuhu 4°C selama 2 jam. Setelah 2 jam dilakukan pengukuran kekuatan gel secara kualitatif berdasarkan skala kekuatan gel yang telah ditentukan.

0 = gel tidak terbentuk

1 = gel sangat lemah, gel jatuh jika dimiringkan

2 = gel tidak jatuh jika tabung dibalik vertical

3 = gel tidak jatuh jika tabung dibalik vertical dan dihentakkan 1 x

4 = gel tidak jatuh jika tabung dibalik dan dihentakkan 5 x

*Preparasi substitusi sorghum dan suplementasi ISP sorghum dalam tepung terigu*

Pada tahap substitusi dilakukan pencampuran beberapa proporsi tepung sorghum yaitu menggunakan 0, 25, 50, 75 dan 100% dari total penggunaan tepung terigu, selanjutnya dibuat biskuit dari masing-masing tepung substitusi ini.

Pada tahap suplementasi ISP sorghum, telah dipilih satu perlakuan terbaik dari tahap sebelumnya, selanjutnya dilakukan penambahan ISP sorghum sebesar 0, 5, 10 dan 15% dari total tepung campuran yang digunakan, lalu dibuat biskuit dari masing-masing konsentrasi ini.

*Pembuatan biskuit sorghum (modifikasi metode oleh Napitupulu, 2006)*

Adonan biskuit disiapkan dengan mencampur 100 g tepung (tepung substitusi atau tepung tersuplementasi) dengan mentega putih, mentega, margarine dan gula halus yang telah dihomogenkan sebelumnya. Selanjutnya adonan diaduk hingga tidak lengket, lalu dicetak dan dipanggang dalam oven 190°C selama 15 menit.

*Analisis sifat kimia*

Analisis sifat kimia meliputi analisis proksimat dan serat biskuit ISP sorghum sesuai metode SNI biskuit (SNI 01-2973-

1992). Total karbohidrat dihitung secara “by difference”. Analisis total asam amino (15 asam amino) dari tepung sorghum, ISP sorghum dan biskuit ISP sorghum dilakukan dengan metode HPLC.

*Analisis sifat biologis biskuit ISP sorghum*

a. Ekstraksi komponen fenolik dari biskuit ISP sorghum

Sebanyak 10 gram berat kering (bk) sampel dimasukkan ke dalam labu erlenmayer (250 ml). Tambahkan 100 ml etanol, kemudian di maserasi dengan menggunakan shaker pada kecepatan 240 rpm selama 24 jam, setelah itu larutan di filtrasi dengan kertas saring. Ampas filtrat (endapan) dimaserasi ulang dengan menambahkan 100 ml etanol dengan waktu dua jam pada kecepatan 240 rpm dan suhu 40 °C. Endapan di maserasi kembali dengan cara yang sama sebanyak 2 kali pengulangan. Filtrat pertama, kedua, dan ketiga sebanyak 300 ml, digabung dan dievaporasi (dipekatkan) menggunakan rotary vacuum evaporator hingga kering pada suhu 40 °C. Kemudian ekstrak kering ditambahkan dengan DMSO hingga volume akhir menjadi 10 ml. Sehingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 1 gram/ml.

b. Penentuan kandungan total fenol biskuit ISP sorghum

Penetapan kandungan total fenol dari sampel ditetapkan secara spektrofotometri dengan pereaksi Folin-Ciocateu (Singleton dan Rossi, 1965 dalam Waterhouse, 1999) yang telah dimodifikasi. Disiapkan kurva standar menggunakan larutan stok asam tanat (5 mg/ml). Sebanyak 10 ml ekstrak sampel yang mengandung komponen fenolik diencerkan dalam 50 ml akuades, lalu diambil sebanyak 50 µl lalu ditambahkan 3,95 ml akuades dan dilarutkan ke dalam 250 µl larutan Folin-Ciocalteu. Campuran tersebut dikocok sampai homogen. Didiamkan selama 8 menit, kemudian ditambahkan 750 µl larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dikocok sampai homogen. Didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar dan diukur serapannya pada panjang gelombang serapan maksimum 765 nm. Kandungan total fenol dalam ekstrak sampel ditetapkan dalam satuan milligram equivalen asam tanat (TAE) per gram sampel biskuit (mg TAE /mg ekstrak).

c. Penentuan aktivitas antioksidan biskuit ISP sorghum

Bahan yang digunakan ekstrak tepung sorghum dan biskuit ISP sorghum. Penentuan aktivitas antioksidan sampel

**Tabel 1.** Komposisi volume larutan standar, sampel dan blanko

	Larutan Standar	Pelarut Metanol	Buffer Tris-HCl	Larutan DPPH	Pelarut Etanol
Standar (St)	200µl	-	800µl	1000µl	-
Sampel (S)	200µl	-	800µl	1000µl	-
Blanko 1 (B1)	-	200µl	800µl	1000µl	-
Blanko 2 (B2)	200µl	-	800µl	-	1000µl

Ke dalam campuran larutan di atas ditambahkan 1ml larutan DPPH, kemudian dikocok, disimpan dalam ruang gelap pada suhu ruang selama 20 menit, lalu diukur pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan (%) dihitung dengan rumus:

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{A_{B1} - (A_{S(st)} - A_{B2})}{A_{R1}} \times 100\%$$

Dimana: A<sub>st</sub> : absorbansi sampel atau standar

A<sub>B1</sub>: absorbansi blanko 1

A<sub>B2</sub>: absorbansi blanko 2

menggunakan metode DPPH menurut metode Mimura dalam Yamaguchi (1998) yang telah dimodifikasi. Disiapkan kurva standar dari larutan stok 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole (BHA) 5mM dibuat dengan cara melarutkan 45mg BHA dalam 50ml ethanol dan metano 180%.Selanjutnya dilakukan reaksi antara larutan standar atau sampel dengan komposisi volume larutan standar, sampel dan blanko dalam setiap tabung reaksi sebagaimana diringkas pada **Tabel 1.**

d. Proliferasi sel imun tepung sorghum dan biskuit ISP sorghum

Aktivitas imunostimulan ditentukan dengan metode Proliferasi Sel Limfosit yang dikembangkan Zakaria *et al* (1996). Disiapkan darah sebanyak 20 ml dalam tabung steril yang mengandung EDTA (*Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid*) 10%. Darah kemudian dipindahkan ke dalam tabung sentrifuse 50 ml secara aseptis di dalam *laminar air flow*. Sampel darah disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Setelah disentrifuse terbentuk tiga lapisan, yaitu lapisan atas adalah plasma darah, bagian paling bawah adalah sel darah dan lapisan diantaranya adalah lapisan *buffy coat* yang mengandung sel darah putih. Lapisan *buffy coat* ini diambil kemudian dituang ke dalam 5 ml media RPMI basal dan di homogenkan. Kemudian dipindahkan kembali ke dalam beberapa tabung sentrifuse yang berisi *ficol hypaque* menggunakan pipet pasteur. Sel darah putih akan terpisah berdasarkan perbedaan densitas melalui sentrifugasi pada kecepatan 2500 rpm selama 30 menit. Lapisan atas yang mengandung limfosit diambil dan dimasukkan ke dalam 5 ml media RPMI basal sebagai media untuk pencucian, kemudian campuran tersebut di sentrifuse kembali dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifuse akan diperoleh limfosit bersih yang berada dibagian bawah tabung sentrifuse berupa platelet, sedangkan monosit serta plasma

darah berada di dalam supernatan. Supernatan dibuang kemudian platelet ditambahkan dengan RPMI tumbuh sebanyak 1 ml. RPMI tumbuh yang mengandung sel limfosit digunakan untuk penghitungan jumlah sel untuk mengetahui konsentrasi sel limfosit per ml yang diperoleh. Suspensi sel limfosit yang diperoleh digunakan untuk pengujian respon proliferasi limfosit dengan metode MTT. Metode MTT dilakukan dengan cara:

- Preparasi sampel dan media tumbuh

Ekstrak tepung sorghum dan biskuit ISP sorghum diencerkan terlebih dahulu dengan DMSO sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan yaitu 1 gram/ml. Kemudian dibuat perhitungan kebutuhan variasi konsentrasi yang akan diuji.

Masing-masing ekstrak dan media tumbuh yang terdiri dari RPMI basal, serum *Foetal Bovine Serum* (FBS) dan antibiotik penisilin-streptomisin disterilkan dengan menggunakan syringe dan membran steril 0,2  $\mu\text{m}$  di dalam *laminar air flow*. Sebanyak 40  $\mu\text{l}$  RPMI basal dimasukkan ke dalam lempeng sumur mikro 96 *well* kemudian ditambahkan 10  $\mu\text{l}$  sampel yang telah diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang ditentukan, kemudian ditambahkan 50  $\mu\text{l}$  sel limfosit dalam RPMI tumbuh.

Kontrol positif yang digunakan adalah 10  $\mu\text{l}$  DMSO sebagai pengganti komposisi sampel, kemudian ditambahkan 40  $\mu\text{l}$  RPMI basal dan 50  $\mu\text{l}$  sel limfosit dalam RPMI tumbuh. Sedangkan kontrol negatif terdiri dari 10  $\mu\text{l}$  DMSO, 40  $\mu\text{l}$  RPMI basal dan 50  $\mu\text{l}$  RPMI tumbuh tanpa sel limfosit. Untuk membandingkan aktivitas imunostimulan ekstrak digunakan mitogen yaitu concanavalin A (Con A) dan lipopolisakarida (LPS) yang dimasukkan ke dalam lempeng sumur mikro 96 *well* sebanyak 10  $\mu\text{l}$  larutan mitogen dengan konsentrasi 0,01  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$

dan 0,02 µg/µl. Kemudian ditambahkan 10 µl DMSO, 30 µl RPMI basal dan 50 µl sel limfosit dalam RPMI tumbuh.

- Uji respons proliferasi limfosit dengan metode MTT (Zakaria, 1996)

Setelah preparasi sampel dan penyajian sel limfosit, kemudian lempeng sumur mikro 96 well di inkubasi dalam inkubator 37 °C 5% CO<sub>2</sub> dan kelembaban relatifnya 95% selama 68 jam. Setelah masa inkubasi berakhir ke dalam lempeng sumur mikro 96 well ditambahkan larutan MTT (*3(4,5-dimethylthiazol-2-5-diphenyl-tetrazolium bromide)*) sebanyak 10 µl dan diinkubasi kembali selama 4 jam. Setelah masa inkubasi berakhir ditambahkan 80 µl larutan 0,04 HCL-Isopropanol kemudian didiamkan selama 15 menit. Setelah itu dilakukan pembacaan absorbansi sampel dengan menggunakan alat mikroplate *ELISA microplate reader* pada panjang gelombang 570 nm. Aktifitas proliferasi dinyatakan sebagai nilai indeks stimulasi (IS) dengan perhitungan sebagai berikut:

$$IS (\%) = \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

*Uji organoleptik (uji kesukaan) formula biskuit substitusi tepung sorghum dan biskuit ISP sorghum*

Uji organoleptik tahap pertama dilakukan terhadap biskuit sorgum dengan variasi substitusi tepung sorghum, yaitu A (tepung sorghum 0%), B (25%), C (50%), D (75%) dan E (100%). Cara kerja uji ini diawali dengan disiapkan biskuit sorgum dengan kode angka random 3 digit angka, lalu dilakukan uji organoleptik (uji kesukaan) terhadap kelima biskuit oleh 25-30 panelis. Panelis diminta memberikan penilaian terhadap tekstur, rasa, kenampakan, dan sifat secara keseluruhan dari masing-masing perlakuan berdasarkan kategori kesukaan yang ditetapkan, yaitu 1

= sangat tidak suka, 2 = tidak suka, 3 = cukup suka, 4 = suka, 5 = sangat suka. Perlakuan terbaik dari uji kesukaan ini akan dipakai sebagai formula standar dalam pembuatan biskuit dengan variasi persentase suplementasi ISP sorghum.

Uji organoleptik tahap ke-2 dilakukan terhadap biskuit yang telah disuplementasi ISP sorghum. Variasi perlakuannya yaitu A (suplementasi ISP sorghum 0%), B (5%), C (10%) dan D (15%). Uji organoleptik yang dilakukan juga uji kesukaan yang melibatkan 25-30 panelis. Parameter kesukaan yang dinilai oleh panelis yaitu warna, rasa, tekstur dan penampakan dari masing-masing perlakuan.

### **Rancangan Percobaan**

Analisa statistik dilakukan terhadap hasil analisa organoleptik substitusi tepung sorghum dan suplementasi ISP sorghum. Analisis menggunakan program *SPSS ver. 13 for Windows* dengan uji Non Parametrik, Kruskal Wallis-Test yang dilanjutkan dengan uji perbandingan Mann-Whitney Test.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Sifat Fungsional ISP Sorghum**

**Tabel 2.** Sifat fungsional ISP sorghum

Parameter	Satuan	ISP Sorghum Numbu
Bulk Density	g/ml	0,84
Daya Serap Air	ml air/g sampel	17,43
Daya Serap Minyak	ml minyak / g sampel	4,14
Kapasitas dan Stabilitas Emulsi	% (jam ke-0, 0,5; 1; 2; 4; 6)	83; 79; 77; 68; 60; 58
Kapasitas dan Stabilitas Buih	% (jam ke-0; 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4)	55,35; 50,51; 48,57; 41,78; 35,95; 27,21; 23,32
Kekuatan Gel	Skala 0 sd 4 (suspensi 7,5; 10; 12,5; 15%)	0 ; 1; 1; 1

Sifat fungsional ISP sorghum dapat dilihat pada **Tabel 2**. Densitas kamba (*bulk density*) ISP sorghum hasil freeze drying adalah 0,84 g/ml. Hasil penelitian Budijanto *et al.*, (2011) menyatakan bahwa ISP biji kecipir hasil spray drying sekitar 0,60 g/ml. Menurut hasil penelitian Rufaizah (2011), tepung sorghum mempunyai daya kamba, daya serap air, daya serap minyak masing masing sebesar 0,79 g/ml, 1,51% dan 0,98%. Dengan demikian, daya kamba ISP sorghum hampir sama dengan tepung sorghum, dimana bahan ini tidak menyerap air terlalu banyak pada adonan yang disiapkan. Daya serap air ISP sorghum cukup tinggi dibandingkan daya serap minyaknya, dimana daya serap air mencapai 17,43 ml air/ g sampel sementara daya serap minyak sebesar 4,14 ml minyak/ g sampel. Menurut hasil penelitian Budijanto *et al.* (2011) komposisi asam amino suatu protein mempengaruhi sifat daya serap air isolat. Komponen asam amino ISP sorghum didominasi oleh asam amino dengan gugus hidrofilik (asam glutamate, asam aspartat, leusin, dan alanin), sehingga dapat meningkatkan kemampuan daya serap air. Sifat daya serap air suatu isolate protein bermanfaat untuk memperbaiki karakteristik produk *bakery*. Sifat daya serap air adonan tepung dapat meningkat dengan penambahan isolat protein biji wijen dan biji bunga matahari, yaitu ketika ditambahkan 5 hingga 10% isolat protein

ke dalam adonan (El-Adawy, 1997 *dalam* Alu'datt, 2011).

Kapasitas emulsi ISP sorghum cukup tinggi, yaitu sebesar 88%, dan stabil selama 3 jam pengamatan awal, selanjutnya mengalami penurunan setelah 3 jam pengamatan berikutnya. Kapasitas emulsi ISP sangat terkait dengan produk pangan yang membutuhkn sifat ini untuk pembentukan emulsi lemak, seperti daging giling, sosis dan sejenisnya. ISP sorghum Pada penelitian Budijanto *et al.* (2011), kapasitas emulsi ISP biji kecipir sebesar 70,5% dan stabil selama 4 jam. Dengan demikian , ISP sorghum berpotensi sebagai ingridien pangan fungsional untuk aplikasi daging dan olahannya karena mempunyai kapasitas dan stabilitas emulsi yang baik. Grafik stabilitas emulsi ISP sorghum dapat dilihat pada **Gambar 1**.

Kapasitas Buih ISP sorghum sebesar 55,35%. ISP sorghum memiliki kemampuan membentuk buih dan memiliki stabilitas buih yang cukup baik. Grafik stabilitas buih dapat dilihat pada **Gambar 2**. Menurut Budijanto (2011), kapasitas buih berkorelasi dengan sifat rheologi protein dalam hal pembentukan gel (gelasi). Dengan karakteristik ini, maka ISP sorghum cocok diaplikasikan pada produk *bakery*, dimana sifat yang diinginkan dari kapasitas buih adalah untuk membentuk lapisan yang stabil dalam pengembangan adonan bakery (Alamanou dan Doxastakis, 1997 *dalam* Budijanto, 2011).

Hasil pengamatan kekuatan gel ISP sorghum menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ISP, maka semakin tinggi daya gelasnya, dimana gel sudah mulai terbentuk pada konsentrasi ISP sorghum sebesar 10% hingga 15%, dengan sifat gel yang lemah, gel jatuh ketika tabung dimiringkan (**Tabel 2.**). Hal ini berhubungan dengan kapasitas buih ISP sorghum yang cukup baik, sehingga pada konsentrasi ISP rendah, yaitu 5%, sudah terbentuk gel yang diinginkan.

### **Sifat Kimia dan Nutrisi Biskuit**

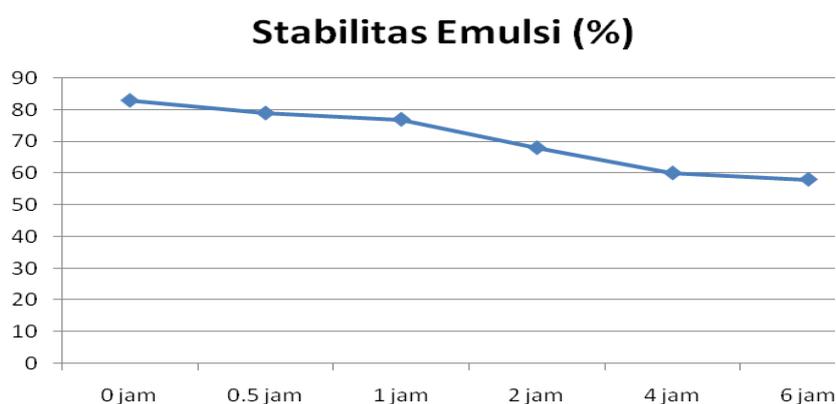
#### *Nilai nutrisi*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi ISP sorghum meningkatkan nilai proksimat biskuit yang dihasilkan,

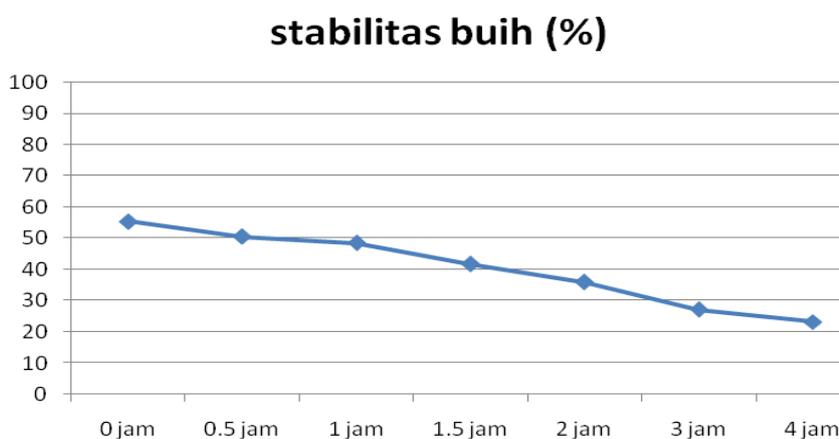
terutama kandungan proteinnya. Kandungan protein biskuit dengan suplementasi ISP sorghum sebanyak 15% paling tinggi, yaitu sebesar 11,87%.

Jika dibandingkan dengan biskuit ISP 0% ataupun dari acuan SNI biskuit, biskuit ISP sorghum 15% dapat dikategorikan sebagai biskuit tinggi protein, karena kandungan proteinnya lebih tinggi 25% dari nilai biskuit acuannya (BPOM, 2011). Dengan demikian biskuit ISP sorghum ini dapat diterapkan untuk memperbaiki status gizi balita dan anak pra sekolah.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi ISP sorghum meningkatkan nilai proksimat biskuit yang dihasilkan, terutama kandungan proteinnya. Kandungan protein biskuit dengan



**Gambar 1.** Grafik kapasitas dan stabilitas emulsi ISP sorghum



**Gambar 2.** Grafik kapasitas dan stabilitas buih ISP sorghum

suplementasi ISP sorghum sebanyak 15% paling tinggi, yaitu sebesar 11,87%. Jika dibandingkan dengan biskuit ISP 0% ataupun dari acuan SNI biskuit, biskuit ISP sorghum 15% dapat dikategorikan sebagai biskuit tinggi protein, karena kandungan proteinnya lebih tinggi 25% dari nilai biskuit acuannya (BPOM, 2011). Dengan demikian biskuit ISP sorghum ini dapat diterapkan untuk memperbaiki status gizi balita dan anak pra sekolah, terutama penderita KEP (Kekurangan Energi Protein), karena balita KEP memerlukan asupan protein yang lebih besar dibandingkan balita normal pada umumnya. Pelletier *et al.* (1995) dalam Kholis (2010).

Kandungan serat dan lemak biskuit semakin tinggi dengan semakin banyaknya

konsentrasi ISP yang ditambahkan, yaitu sebesar 3,8% untuk biskuit ISP 15%. Namun kadar serat biskuit ISP sorghum masih tetap dalam kisaran standar mutu biskuit balita yang ditetapkan dalam Keputusan Menkes No. 224/Menkes/SK/II/2007 tentang Spesifikasi Teknis MP-ASI bentuk biskuit balita, yaitu maksimal 5% (Supari, 2007). Kandungan nutrisi SNI dan biskuit dengan suplementasi ISP sorgum dapat dilihat pada **Tabel 3.**

*Kandungan asam amino*

**Tabel 4.** menunjukkan komposisi asam amino tepung sorghum, ISP sorghum dan biskuit yang telah disuplementasi ISP sorghum. Hasil analisa menunjukkan

**Tabel 3.** Kandungan nutrisi biskuit ISP sorghum

Parameter	Biskuit Standar (SNI 01-2973- 1992)	Biskuit ISP 0%	Biskuit ISP 5%	Biskuit ISP 10%	Biskuit ISP 15%
Kadar Air (%)	Max 5%	1,53	1,35	1,29	1,25
Kadar Abu (%)	Max 1,6%	1,3	1,4	1,4	1,2
Protein (%) b/b	Min 9%	8,23	8,81	8,85	11,87
Lemak (%) b/b	Min 9,5%	21,2	22,3	32,13	33,74
KH (%)	Min 70%	67,74	66,14	56,33	51,94
Serat (%)b/b	Max 0,5%	2,41	3,32	4,07	3,8

**Tabel 4.** Kandungan asam amino tepung sorghum, ISP sorghum dan biskuit ISP sorghum

Parameter Asam Amino (% b/b)	Tepung Sorghum Numbu	ISP Sorghum Numbu	Biskuit ISP 0%	Biskuit ISP 5%	Biskuit ISP 10%	Biskuit ISP 15%
Asam aspartat	0,64	3,26	0,57	0,61	0,55	0,59
<b>Asam glutamate</b>	2,23	9,27	2,29	2,18	2,20	2,23
Serin	0,45	2,16	0,53	0,54	0,51	0,54
Histidin	0,18	0,96	0,18	0,19	0,20	0,21
Glisin	0,25	1,50	0,26	0,26	0,26	0,29
Threonin	0,26	1,35	0,33	0,35	0,34	0,36
Arginin	0,32	2,32	0,39	0,40	0,40	0,40
<b>Alanin</b>	0,86	3,60	<b>0,42</b>	<b>0,47</b>	<b>0,49</b>	<b>0,55</b>
Tirosin	0,39	1,88	0,28	0,29	0,30	0,32
Methionin	0,21	1,14	0,16	0,19	0,16	0,17
Valin	0,43	2,22	0,41	0,43	0,40	0,42
Fenilalanin	0,65	2,81	0,47	0,48	0,46	0,48
L-leusin	0,38	1,70	0,35	0,36	0,34	0,35
<b>Leusin</b>	<b>1,24</b>	<b>4,73</b>	<b>0,73</b>	<b>0,78</b>	<b>0,82</b>	<b>0,88</b>
Lisin	0,23	1,40	0,30	0,32	0,23	0,18
<b>Total AA</b>	<b>8,73</b>	<b>40,32</b>	<b>7,67</b>	<b>7,83</b>	<b>7,66</b>	<b>7,96</b>

bahwa asam amino penyusun ISP sorghum didominasi oleh asam amino dengan gugus hidrofilik, terutama asam aspartat, asam glutamate, alanin dan leusin, masing-masing sebesar 0,64; 2,23; 0,86 dan 1,24% (b/b). Hal ini terkait dengan sifat fungsional ISP sorghum yang mempunyai daya serap air dan daya emulsi yang cukup tinggi.

Total asam amino ISP sorghum meningkat hampir sekitar lima kali lipat dari total asam amino pada tepung sorghum. Proses pemekatan dan pemurnian protein, berkorelasi dengan peningkatan total asam amino suatu bahan. Semakin baik proses pemekatan dan pemurnian, akan semakin tinggi pula konsentrasi total asam amino penyusunnya.

Kandungan total asam amino biskuit semakin meningkat dengan meningkatnya ISP sorghum yang ditambahkan dalam adonan formula. Kecenderungan ini sama seperti hasil penelitian Alu'datt (2011) yang menunjukkan peningkatan total asam amino esensial pada biskuit hasil fortifikasi ISP barley dan tepung barley dalam tepung terigu. Demikian juga dengan hasil penelitian El-Adawy, 1997 dalam Alu'datt (2011) yang menyatakan bahwa fortifikasi tepung terigu dengan ISP biji wijen meningkatkan kandungan asam amino lisin pada roti.

### **Sifat Biologis Biskuit**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan total fenol biskuit semakin meningkat seiring dengan peningkatan

suplementasi ISP sorghum. Kandungan total fenol biskuit dengan suplementasi ISP sorghum 15% meningkat sekitar delapan kali lipat dari kontrol, yaitu sebesar 0,808%. Kandungan total fenol tertinggi diperoleh pada biskuit ISP 10%, yaitu sebesar 1,006 mg TAE/mg ekstrak.

Data terkait aktivitas antioksidan biskuit ISP sorghum juga menunjukkan kecenderungan yang sama, terjadi peningkatan aktivitas antioksidan dengan semakin tingginya ISP sorghum yang ditambahkan. Aktivitas antioksidan pada biskuit ISP 15% meningkat sekitar dua kali lipat dari kontrol. Aktivitas antioksidan tertinggi juga didapat dari biskuit ISP 10%, yaitu sebesar 41,499 µg/g sampel eq BHA. Kedua hal ini menunjukkan bahwa suplementasi ISP sorghum akan meningkatkan kandungan total fenol dan aktivitas antioksidan biskuit yang dihasilkan. Kandungan total fenol suatu bahan berkaitan erat dengan aktivitas antioksidan di dalamnya. Senyawa fenolik akan mendonorkan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya kepada radikal bebas, sehingga senyawa tersebut mempunyai aktivitas sebagai antioksidan (Awika dan Lloyd, 2003).

Total fenol pada minuman coklat hasil penyeduhan dengan air panas adalah sebesar 29 mg GAE/g (Hartanto, 2012). Total fenol dan aktivitas antioksidan biskuit 15% ISP barley sebesar 369,60 mg/100 g dan 63,30% (Alu'datt, 2011). Hasil ini juga menunjukkan bahwa biskuit ISP sorghum

**Tabel 5.** Kandungan total fenol, aktivitas antioksidan dan proliferasi sel biskuit ISP sorghum

Parameter	Biskuit	Biskuit	Biskuit	Biskuit
	ISP 0%	ISP 5%	ISP 10%	ISP 15%
Total Fenol (mg TAE/mg ekstrak)	0,130	0,567	1,006	0,808
Aktivitas antioksidan (µg/g sampel eq BHA)	17,038	16,360	41,499	40,675
Indeks Proliferasi sel (% IS)	443,79	134,48	141,72	142,41

merupakan biskuit kaya total fenol dan antioksidan, terutama biskuit ISP sorghum 10% yang memberikan nilai total fenol dan aktivitas antioksidan tertinggi, yaitu 1,006 mg TAE/mg ekstrak dan 50% (41,499 µg/g sampel eq BHA).

Data pada **Tabel 5** menunjukkan bahwa perlakuan suplementasi ISP sorghum cenderung menurunkan indeks stimulasi atau proliferasi sel, yang ditunjukkan dengan semakin rendahnya indeks stimulasi sel dengan semakin meningkatnya konsentrasi ISP sorghum yang ditambahkan pada formula biskuit. Kecenderungan ini sesuai dengan hasil penelitian Alu'datt (2011) yang menunjukkan bahwa kandungan total fenol, aktivitas antioksidan, aktivitas inhibitor ACE dan aktivitas inhibitor amylase semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi fortifikasi tepung barley dan ISP barley pada roti *pita*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi ISP sorghum cenderung menurunkan indeks stimulasi sel imun. Pada biskuit kontrol (ISP 0%), indeks stimulasi sebesar 443,79%. Indeks stimulasi menurun sejak penambahan ISP

5% , 10% hingga 15%, yaitu menjadi 134,48% , 141,72% dan 142,41% (**Tabel 5**). Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian Sasmito *et.al.* (2006) yang menunjukkan bahwa penambahan berbagai konsentrasi susu kedelai tidak meningkatkan indeks proliferasi sel limfosit tikus Balb/c secara nyata.

### Sifat Organoleptik Biskuit

Pada penelitian ini dilakukan dua kali uji organoleptik. Uji pertama merupakan uji kesukaan (hedonik) terhadap biskuit substitusi tepung sorghum, yang meliputi kesukaan panelis terhadap tekstur, rasa, warna dan penampakan keseluruhan biskuit. Hasil uji kesukaan menunjukkan bahwa tekstur, rasa, warna dan penampakan keseluruhan biskuit berbeda secara nyata terhadap berbagai konsentrasi ISP sorghum yang ditambahkan, dengan taraf kepercayaan 95%. Skor tertinggi terhadap karakteristik tekstur, rasa dan penampakan keseluruhan didapat dari perlakuan tepung sorghum 25%. Sedangkan skor tertinggi karakteristik warna biskuit didapat dari perlakuan kontrol (**Tabel 6**). Warna biskuit

**Tabel 6.** Penilaian panelis terhadap tekstur, rasa, warna dan penampakan keseluruhan biskuit substitusi tepung sorghum

Perlakuan	Tekstur	Rasa	Warna	Keseluruhan
Tp.Sorghum 0%	3,58 ± 1,39	3,23±1,28	4,61 ± 0,80	3,61 ± 1,09
Tp.Sorghum 25%	4,13 ± 0,85	4,23±1,06	4,03 ± 1,11	4,10 ± 0,98
Tp.Sorghum 50%	3,94 ± 0,96	3,87±0,92	3,90 ± 0,83	3,94 ± 0,81
Tp.Sorghum 75%	2,97 ± 1,33	2,90±1,33	2,90 ± 1,14	3,03 ± 1,11
Tp.Sorghum 100%	3,35 ± 1,20	3,45±1,12	3,29 ± 1,11	3,48 ± 0,85

**Tabel 7.** Penilaian panelis terhadap rasa, aroma, tekstur dan penampakan keseluruhan biskuit ISP sorghum

Perlakuan	Rasa	Aroma	Tekstur	Keseluruhan
ISP Sorghum 0%	4,00±0,98 <sup>a</sup>	3,80±0,92 <sup>a</sup>	4,27±1,05 <sup>a</sup>	4,60±0,62 <sup>a</sup>
ISP Sorghum 5%	3,53±0,86 <sup>b</sup>	3,53±0,82 <sup>a</sup>	3,73±1,01 <sup>b</sup>	3,63±0,99 <sup>b</sup>
ISP Sorghum 10%	3,40±0,86 <sup>c</sup>	3,67±0,84 <sup>a</sup>	3,30±1,02 <sup>c</sup>	2,83±0,98 <sup>c</sup>
ISP Sorghum 15%	3,10±1,03 <sup>d</sup>	3,20±0,92 <sup>a</sup>	2,97±0,99 <sup>d</sup>	2,47±0,89 <sup>d</sup>

dengan penambahan tepung sorghum kurang disukai karena warna tepung sorghum yang kurang putih dibandingkan tepung terigu, dan tekstur menjadi lebih berpasir, kemungkinan karena tekstur tepung sorghum yang kurang halus. Berdasarkan data uji organoleptik, ditetapkan perlakuan terbaik dari uji ini adalah perlakuan tepung sorghum 25% karena rata-rata respon konsumen memberi skor 4 (suka) terhadap produk ini dari seluruh kriteria yang ditetapkan, yaitu tekstur, rasa, warna dan penampakan secara keseluruhan.

Pada uji organoleptik kedua, dilakukan uji kesukaan (hedonik) terhadap biskuit dengan perlakuan suplementasi ISP sorghum, dengan formula dasar biskuit tepung sorghum 25% (perlakuan terbaik uji organoleptik sebelumnya). Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa berbagai perlakuan suplementasi ISP sorghum berbeda secara nyata terhadap tingkat kesukaan panelis terhadap rasa, tekstur dan penampakan keseluruhan biskuit ISP sorghum. Namun, tidak berbeda nyata terhadap aroma biskuit. Semakin tinggi ISP sorghum yang ditambahkan ternyata semakin kurang disukai oleh konsumen. Hal ini dimungkinkan karena pengaruh warna ISP sorghum yang berwarna coklat sehingga warna biskuit menjadi lebih gelap, Selain itu ISP sorghum juga menyebabkan biskuit menjadi lebih keras dan tekstur seperti pasir jika dibandingkan dengan kontrol. Panelis memberikan skor kesukaan terhadap rasa, aroma, tekstur dan penampakan keseluruhan pada biskuit ISP 5% dengan kisaran skor 3 (cukup suka), namun pada biskuit ISP 15%, panelis memberikan skor terendah untuk tekstur dan penampakan keseluruhan, yaitu skor 2 yang bermakna tidak suka (**Tabel 7**).

## **KESIMPULAN**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek suplementasi isolat

protein sorghum terhadap sifat kimia, fungsional, nutrisi, biologis dan organoleptik dari biskuit sorghum. Hasil menunjukkan bahwa substitusi tepung sorghum 25% dan suplementasi ISP hingga konsentrasi 15% dapat diaplikasikan untuk berbagai produk pangan fungsional (seperti produk pangan hipoglikemik, antioksidan, antidiabetes, dan untuk penderita KEP). Kandungan protein, asam amino, total fenol dan aktivitas antioksidan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ISP sorghum yang ditambahkan, dari 0% hingga 15%. Hasil uji organoleptik menunjukkan bahwa panelis lebih menyukai formula biskuit dengan substitusi tepung sorghum 25%. Adapun penambahan ISP sorghum sebesar 10% cukup disukai panelis dari segi rasa, aroma, warna, tekstur dan penampakan umum. Disarankan bahwa substitusi tepung sorghum dan suplementasi ISP sorghum pada tepung terigu hingga konsentrasi 15% dapat diaplikasikan untuk berbagai produk pangan setelah ada proses perbaikan dalam produksi isolat dan karakteristiknya, meliputi sifat kimia, fungsional, nutrisi dan biologis.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Terima kasih kepada Kementerian Riset dan Teknologi yang telah membiayai penelitian ini melalui program Insentif PKPP (Peningkatan Kemampuan Peneliti dan Perekayasa) tahun 2012.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Alu'datt, M.H., Taha Rababah, Khalil Ereifej, Inteaz Alli, Mohammad A. Alrababah, Ali Almajwal, Nather Masadeh and Mohammad N. Alhamad. 2011. Effects of Barley Flour And Barley Protein Isolate on Chemical, Functional, Nutritional and Biological Properties of Pita Bread. *Journal online*.
- Awika, Joseph M., Lloyd W. Rooney. 2004. Sorghum Phytochemicals and Their

- Potencial Impact on Human Health. *J. science Phytochemistry*. Vol 65: 1199 – 1221.
- Budijanto, S., A.B. Sitanggang dan W. Murdiati. 2011. Karakterisasi Sifat Fisiko Kimia dan Fungsional Isolate Protein Biji Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus*). *J. Teknol. dan Industri Pangan*. Vol 12 (2): 130-136
- Bean, S.R., B.P. Ioerger, S.H. Park and H. Singh. 2006. Interaction Between Sorghum Protein Extraction and Precipitation Condition on Yield, Purity and Composition of Purified Protein Fraction. *Cereal Chem*. 83 (1): 99 – 107
- Hartanto, H. 2012. “Identifikasi Potensi Antioksidan Minuman Cokelat dari Kakao Lindak (*Theobroma Cacao L.*) dengan Berbagai Cara Preparasi: Metode Radikal Bebas *1,1 Diphenyl-2-Picrylhydrazil* (DPPH)”. Skripsi. Universitas Katolik Widya Mandala. Surabaya.
- Henry. R. J and P. S. Kettlewell. 1996. In R. J. Henry and Kettlewell, Editors. *Cereal Grain Quality*. Chapman and Hall. London.
- Kholis, N. dan F. Hadi. 2010. Pengujian Bioassay Biskuit Balita yang Disuplementasi Konsentrat Protein Daun Kelor (*Moringa oleifera*) pada Model Tikus Malnutrisi. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 11(3): 144-151.
- Kinsella, J. E. 1976. Functional Properties of Protein in Foods: a Survey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 7 (1976): 219-280
- Mimura, A. *Protocols for Measurement of Antioxidative Activities*. Departement of Applied Chemistry and Biotechnology, Faculty of Engineering, University of Yamanashi.
- Napitupulu, A. 2006. “Kajian Pemanfaatan Tepung Sorghum dalam Pembuatan Biskuit Marie”. Skripsi. IPB. Bogor.
- Rufaizah, Ummi. 2011. “Pemanfaatan Tepung Sorghum (*Sorghum bicolor L moench*) pada Pembuatan Snack Bar Tinggi Serat Pangan dan Sumber Zat Besi Untuk Remaja Puteri”. Skripsi. IPB. Bogor.
- Salimi, Y.K. 2011. “Peranan Ekstrak dan Tepung Sorghum (*Sorghum bicolor L-Moench*) dalam Penghambatan Kanker secara in Vitro dan in Vivo pada Mencit BALB/c”. Thesis. IPB. Bogor.
- Sasmito, E., Sri Mulyaningsih, Eka Kartika Untari dan Ratna Widyaningrum. 2006. *Aktivitas Imunostimulan Susu Kedelai terhadap Immunoglobulin (IgG, IgA) dan Proliferasi Sellimfosit pada Mencit Balb/c yang Diinduksi Hepatitis A*. *Majalah Farmasi Indonesia*, 17(3), 156– 161, 2006.
- Sirappa, M. P. 2003. Prospek Pengembangan Sorgum sebagai Komoditas Alternatif Pangan, Pakan dan Industri. *Jurnal Litbang Pertanian*, 22(4).
- Stonestreet, N. J. M, S. Alavi and S. R. Bean. 2010. Sorghum Proteins: The Concentration, Isolation, Modification and Food Applications of Kafirin. *J. Food Science*. 75(5): R90–R104
- Supari, S.F. 2007. *Spesifikasi Teknis Makanan Pendamping ASI (MP-ASI) Biskuit untuk Anak 12-24 Bulan*. Keputusan Menkes No 224/Menkes/SK/II/2007, Jakarta.
- Taylor, J. R. N., Schober, T. J., & Bean, S. R. 2006. Novel Food and Non-Food Uses for Sorghum and Millets. *J. Cereal Science*, 44(3): 252–271.
- Yamaguchi, T., Takamura, T., Terao, J. 1998. *HPLC Method for Evaluation of The Free Radical-Scavenging Activity of Foods by Using 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 62: 1201-1204
- Yousif, A., D. Nhepera and S. Johnson. 2012. Influence of Sorghum Flour Addition on Flat Bread in Vitro Starch Digestibility, Antioxidant Capacity and Consumer Acceptability. *Food Chem*. 134 (2012): 880 – 887.
- Zakaria, F.R. 1996. *Sintesis Senyawa Radikal dan Elektrofil dalam dan oleh Komponen Pangan*. Dalam Prosiding Seminar dan Sistem Pangan, Reaksi Biomolekul,

Dampak Terhadap Kesehatan dan Penangkalannya. Kerjasama Pusat Studi Pangan dan Gizi dengan Kedutaan Besar Prancis, Jakarta. Fransiska, RZ, Sedarnawati dan Ratih Dewantin (eds.) 4 April 1996, Bogor.