

Influence of Dry Rendering dan Ultrasonic-Assisted Extraction on DPPH Radical Scavenging Activity of Red Fruit (*Pandanus conoideus*)

Pengaruh Metode Dry Rendering dan Ultrasonic-Assisted Extraction terhadap Profil Aktivitas Perendaman Radikal Bebas DPPH pada Buah Merah (*Pandanus conoideus*)

Mitsalina Fildzah Arifah¹, Khalif Sholehah Indra Kurniasih², Endah Kurniawati³, Mustika Erlinaningrum⁴, Zaskia Nora Melanie⁵

*^{1,2,3,5} Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta, Jl. Siliwangi, Ringroad Barat, Gamping, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta, Indonesia

⁴Badan Pengawas Obat dan Makanan, Unit Manokwari, Papua Barat, Indonesia

ABSTRACT

Background: Red fruit (*Pandanus conoideus*) is a source of antioxidant compound components. Extraction methods can affect the antioxidant activity of the red fruit oil (RFO). Dry rendering is often used in conventional oil extraction, but it can potentially degrade antioxidant components. Currently, ultrasonic-assisted extraction (UAE) is a modern, yet underexplored method for oil extraction.

Objective: This study aims to compare the extraction method on the antioxidant activity of RFO.

Methods: The extraction methods included dry rendering and ultrasound-assisted extraction (UAE) using water and n-hexane as solvents. The flavonoid and phenolic contents, percentage yield, and DPPH free radical scavenging antioxidant activity were evaluated in RFO.

Results: The results showed that the % yield with dry rendering was higher than in the UAE. The three extracts showed the presence of flavonoids and phenolics based on FeCl₃ and AlCl₃ tests. The highest antioxidant activity was in the dry rendering method (0,13% w/v) compared to UAE-water (0,98% w/v) and UAE-n hexane (1,47% w/v). Dry rendering could separate bioactive compounds with the highest % yield and inhibit DPPH free radicals with high temperatures, and without solvents.

Conclusion: The dry rendering was selected as the extraction method, resulting in higher yields and antioxidant compounds in EBM compared to UAE.

Keywords: Antioxidant, Red Fruit, DPPH, Dry Rendering, UAE.

ABSTRAK

Latar Belakang: Buah merah (*Pandanus conoideus*) dikenal memiliki komponen senyawa antioksidan. Pengaruh metode ekstraksi dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan pada ekstrak minyak buah merah (EBM). Metode dry rendering sering digunakan dalam ekstraksi minyak secara konvensional, namun berpotensi pada degradasi komponen antioksidan. Saat ini, ultrasonic-assisted extraction (UAE) merupakan metode modern masih belum banyak diekplorasi dalam ekstraksi minyak.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan jenis metode ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan dari EBM.

Metode: Metode ekstraksi digunakan dry rendering, UAE dengan pelarut air dan n-heksana, selanjutnya dihitung % rendemen, identifikasi flavonoid dan fenolik, dan analisis perendaman radikal bebas DPPH pada EBM.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa % rendemen dengan dry rendering memberikan lebih tinggi dibandingkan dengan UAE. Ketiga ekstrak menunjukkan adanya flavonoid dan fenolik berdasarkan uji FeCl₃ dan AlCl₃. Aktivitas antioksidan paling tertinggi pada metode dry rendering (0,13% b/v) dibandingkan UAE-air (0,98 % b/v) dan UAE-n heksana (1,47 % b/v). Dry rendering dapat memisahkan senyawa bioaktif dengan % rendemen dan menghambat radikal bebas DPPH tertinggi dengan penggunaan suhu tinggi dan tidak memerlukan pelarut.

Kesimpulan: Metode dry rendering sebagai metode ekstraksi menghasilkan rendemen dan senyawa antioksidan pada EBM lebih tinggi dibanding UAE.

Kata kunci: Antioksidan, Buah Merah, DPPH, Dry rendering, UAE.

PENDAHULUAN

Buah merah (*Pandanus conoideus*) merupakan tanaman endemik asal Papua yang turun temurun dimanfaatkan kandungan minyaknya untuk pengobatan tradisional¹. Minyak buah merah diketahui mengandung agen antioksidan tinggi yaitu β - karoten, α - tokoferol dan senyawa fenol, serta asam lemak tidak jenuh seperti asam oleat, linoleat, linolenat dan palmitoleate¹². Pengolahan minyak oleh masyarakat setempat dilakukan secara konvensional yaitu melalui proses ekstraksi pemanasan atau rendering³.

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu senyawa dari berbagai komponen menggunakan pelarut tertentu. Metode ekstraksi minyak dapat dibagi menjadi metode konvensional (*wet rendering* dan *dry rendering*), dan modern^{4,5}. Pada penelitian sebelumnya, ekstraksi minyak buah merah menggunakan metode basah (*wet rendering*) menghasilkan rendemen 15,92%³. Sedangkan metode ekstraksi modern, yaitu *Ultrasound assisted extraction* (UAE) belum banyak dieksplorasi. Metode UAE menggunakan gelombang ultrasonik sehingga memiliki efek mekanis memecahkan sel dan meningkatkan solubilitas komponen di dalam sampel. Kelebihan metode ini walaupun dilakukan pada suhu rendah namun memiliki efisiensi waktu lebih tinggi dibandingkan metode konvensional⁶. Setiap metode ekstraksi akan mempengaruhi kualitas minyak, jumlah rendemen dan komposisi senyawa yang dihasilkan⁵. Oleh karena itu, keterbaharuan penelitian membandingkan

metode ekstraksi konvensional *dry rendering* dengan modern UAE untuk memaksimalkan potensi antioksidan buah merah serta dapat diaplikasikan sebagai pangan fungsional.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Bahan

Buah merah, DPPH (Merck p.a.), vitamin C (p.a.), aquadest, n-hexana (Merk p.a.), Etanol p.a. (Smart Lab p.a.), metanol (Merck p.a.), Pereaksi AlCl₃ (Teknis), Pereaksi FeCl₃ (Teknis), karbon aktif, plat silika gel 60 F254, kloroform (p.a.), etil asetat (p.a.), kertas saring, tip dan tabung sentrifugasi.

Metode Penelitian

Buah merah klon Tawi diambil dari daerah Timika, Papua Tengah, lalu diamati karakteristik buah merah dari warna, panjang, lebar buah dan berat buah⁷. Buah merah dilakukan determinasi di Laboratorium Pembelajaran Biologi, Universitas Achmad Dahlan. Penyiapan sampel dilakukan dengan menyortir dan mengupas biji-biji buah merah dengan alat sederhana. Kemudian dibersihkan dengan air mengalir dan dikeringkan untuk dilakukan ekstraksi. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan dua metode, yaitu *Dry Rendering* dan *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE). Sampel buah merah yang digunakan kedua metode ekstraksi sebesar 10 g/sampel⁴.

Pada metode *dry rendering*, sampel dipanaskan pada suhu 60°C selama 20 menit. Kemudian, sampel buah merah dilakukan pengepresan dengan alat press mekanik. Ekstrak minyak buah merah diletakkan pada

beaker glass dan didiamkan selama 10 menit dalam suhu ruang agar terjadi pengendapan. Endapan dipisahkan menggunakan alat sentrifugasi pada kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit⁸.

Pada metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE), terdapat dua jenis pelarut yang digunakan, yaitu air dan n-hexana (p.a). Perbandingan sampel terhadap pelarut yang digunakan yaitu 1: 2,5 (b/v) berdasarkan Susanti *et. al.*⁴. Kemudian ekstraksi dilakukan selama 60 menit pada suhu 60°C dengan alat sonikator. Endapan dipisahkan menggunakan alat sentrifugasi pada kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit. Supernatan ekstrak minyak buah merah (EBM) diuapkan dengan *waterbath* pada suhu 40°C untuk menghilangkan pelarut yang digunakan⁴.

Seluruh ekstrak minyak buah merah (EBM) yang dihasilkan dimurnikan dengan adsorben karbon aktif. Masing-masing ekstrak ditambahkan adsorben (karbon aktif) yang sebelumnya telah diaktivasi dengan suhu oven 250°C selama 1 jam dengan perbandingan 2% b/b⁹. Selanjutnya, minyak diaduk selama 30 menit dengan kecepatan 500 rpm⁹. Hasil minyak dimasukkan ke dalam botol gelap dan diberi alumunium foil, lalu disimpan di dalam kulkas. Kemudian rendemen minyak buah merah dihitung dari berat minyak dibagi berat buah merah dikali 100%^{4,9}

Minyak buah merah (EBM) dilakukan identifikasi senyawa flavonoid dan fenolik menggunakan uji fitokimia dan uji KLT. Pereaksi yang digunakan untuk uji fitokimia

yaitu AlCl₃ dan FeCl₃. Kemudian untuk uji KLT menggunakan fase diam plat silika gel 60 F254. Fase gerak menggunakan kloroform: etil asetat (90:10 v/v) untuk deteksi flavonoid aglikon¹⁰. Sampel EBM ditotolkan dan dielusi. Hasil KLT diamati pada sinar tampak, sinar UV254 nm dan UV366 nm, serta dihitung nilai Rf untuk membandingkan antar sampel EBM.

Aktivitas antioksidan minyak buah merah diukur menggunakan metode perendaman radikal bebas DPPH. Standar Vitamin C (standar positif) dibuat dengan konsentrasi 35, 40, 45, 50, 55 dan 56 ppm dari larutan induk ke dalam labu ukur 5 mL. Sebanyak 500 µL standar atau sampel buah merah ditambahkan 1,0 mL DPPH hingga ditambah hingga 5,0 mL etanol¹¹. Larutan selanjutnya divortex selama 15 detik dan diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap. Kemudian absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang maksimal (517 mm) terhadap blanko dan daya penghambatan DPPH (%) dihitung untuk membuat regresi linier. Dari data regresi tersebut, aktivitas antioksidan ditentukan dari nilai IC₅₀ masing-masing standar/ sampel berdasarkan modifikasi¹². Kontrol pelarut yang terdiri atas 1,0 mL DPPH di ad 5,0 mL etanol p.a. Perhitungan %penghambatan terhadap DPPH (%)¹³:

$$\% \text{ Daya penghambatan terhadap DPPH (\%)} = \frac{\text{Ab} - \text{As}}{\text{Ab}} \times 100\%$$

Keterangan:

As = Absorbansi sampel

Ab = Absorbansi blanko

Aktivitas antioksidan akan ditentukan dengan nilai IC₅₀ sampel dengan dibuat persamaan regresi linier dengan sumbu x sebagai nilai konsentrasi sampel/standar (ppm atau %b/v) dan sumbu y sebagai % daya hambat (aktivitas antioksidan). Dari data kurva regresi tersebut, akan diperoleh aktivitas antioksidan ditentukan dari nilai IC₅₀ masing-masing sampel ¹².

Minyak buah merah dideteksi dengan metode Spektroskopi Fourier Transform Infrared (FTIR) pada daerah inframerah tengah antara 4000-650 cm⁻¹ sehingga dapat dikelompokkan dengan Analisis Diskriminasi Liniear dengan TQ analysis ¹⁴. Hasil spektra IR dan aktivitas antioksidan IC₅₀ dikombinasi kalibrasi multivariat dianalisis dengan PLSR ¹⁵. Kalibrasi multivariat dievaluasi dengan parameter dari root mean square error of calibration (RMSEC), root mean square error of prediction (RMSEP), dan koefisien korelasi (R²) ^{16,17}

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi tanaman sampel buah merah klon Tawi menunjukkan jenis *Pandanus conoideus Thouars*. Buah merah klon tawi memiliki warna merah, panjang, lebar buah dan berat buah sebesar 59,6 cm; 12,8 cm dan 2,2 kg/buah pada Gambar 1. Papua diketahui memiliki berbagai klon berdasarkan warna, ukuran buah, lokasi, kandungan, dan tingkat kematangan⁷.



Gambar 1. Tanaman buah merah klon Tawi

Pada Tabel 1 dapat dilihat tiga hasil uji dari sampel ekstraksi *dry rendering*, UAE menggunakan pelarut air (UAE-Air), dan pelarut hexana (UAE-Hexana). Ketiga sampel minyak buah merah menghasilkan warna merah dan diketahui adanya kandungan flavonoid dan fenolik dengan metode FeCl₃ dan AlCl₃. Hasil % rendemen diketahui rendemen tertinggi pada metode *dry rendering* dibandingkan metode UAE. Perbedaan metode ekstraksi menghasilkan hasil % rendemen yang berbeda ^{18,19}. % rendemen merupakan jumlah total ekstrak yang diperoleh dari setelah proses ekstraksi. Semakin tinggi rendemen, maka semakin tinggi komponen yang larut dalam pelarut yang digunakan ⁹. Oleh karena itu, metode *dry rendering* menghasilkan komponen minyak yang lebih tinggi dibandingkan UAE.

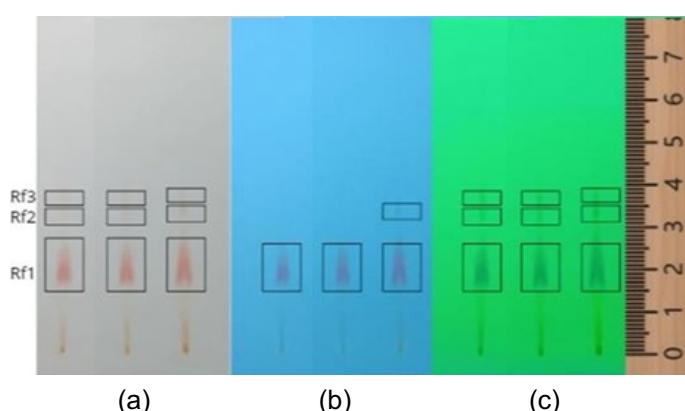
Tabel 1. % Rendemen dan Uji Fitokimia pada Minyak Buah Merah pada Berbagai Metode

Metode Ekstraksi	Rendemen (%)	Uji Flavonoid	Uji Fenolik
Dry rendering	8,08	+	+
UAE-Air	6,40	+	+
UAE-Hex	6,50	+	+

Analisis kualitatif uji fitokimia dan uji KLT digunakan untuk mendeteksi senyawa flavonoid dan fenolik. Pereaksi AlCl₃ sebagai deteksi flavonoid yang dilihat dari perubahan

warna menjadi kuning. Sedangkan pereaksi FeCl_3 digunakan untuk mendeteksi flavonoid yang dilihat dari perubahan warna oranye. Pada Tabel 1, semua sampel MBA dari berbagai metode ekstraksi menunjukkan adanya flavonoid dan fenolik¹².

Profil kromatogram ekstrak minyak buah merah pada KLT dapat dilihat pada Gambar 2. Fase gerak digunakan kloroform : etil asetat (90:10 v/v) dengan fase diam Plat silika gel 60 F254 berdasarkan modifikasi¹⁰. Hasil elusi KLT didapatkan ketiga pita pada metode ekstraksi *dry rendering* dan UAE dengan nilai RF1, RF2 dan RF3 sebesar 0,250; 0,406; dan 0,475. Dari keempat metode ekstraksi, metode *wet rendering*⁹ hanya menunjukkan 1 pita pada sinar tampak, UV 254 dan UV 366 nm. Berdasarkan pita-pita yang dihasilkan, adanya berbagai spot berwarna oranye pada sinar tampak dan berwarna kuning hijau pada sinar 365 nm dan 254 nm yang dapat dimungkinkan memiliki kepolaran yang mirip dengan senyawa fenolik, tanin, dan antrakuinon aglikon¹⁰.



Gambar 2. Analisis KLT pada MBA dengan berbagai metode ekstraksi (kanan-kiri: *dry rendering*, n-hexana, air) yang dilihat pada (a) sinar tampak, (b) sinar 365 nm dan (c) sinar 254 nm.

Pengujian aktivitas antioksidan MBA dilakukan dengan metode perendaman radikal bebas DPPH dan dideteksi menggunakan instrument Spektrofotometer UV-VIS. Hasil analisis aktivitas antioksidan pada minyak buah merah dari berbagai metode dibandingkan kontrol positif (vitamin C) pada Tabel 2. Vitamin C merupakan sumber antioksidan sintetik yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi sebagai pembanding sampel^{20,21}. Penelitian ini dapat menunjukkan minyak buah merah klon Tawi (*Pandanus conoideus* Thouars) dengan metode *dry rendering* dan UAE-air dan UAE dengan n-hexana memiliki daya hambat dikategorikan lemah terhadap radikal bebas DPPH. Akan tetapi, penelitian lain pada minyak buah merah (*Pandanus baccari* L) dapat menghambat antioksidan dikategorikan kuat dengan IC_{50} sebesar 14,45 ppm dengan metode maserasi dengan pelarut etanol¹². Selain itu, penelitian lain menunjukkan buah merah klon Mbarugum dari *Pandanus conoideus* diketahui nilai IC_{50} sebesar 37,69 ppm dengan metode UAE-air⁴. Keragaman jenis buah merah tersebar luas di daerah pesisir atau pegunungan diketahui 9 klon di Pulau Papua dan sekitarnya dapat mempengaruhi rendemen dan kandungan dari buah merah⁷. Oleh karena ini, aktivitas antioksidan dapat dipengaruhi oleh metode ekstraksi, pelarut dan jenis buah merah.

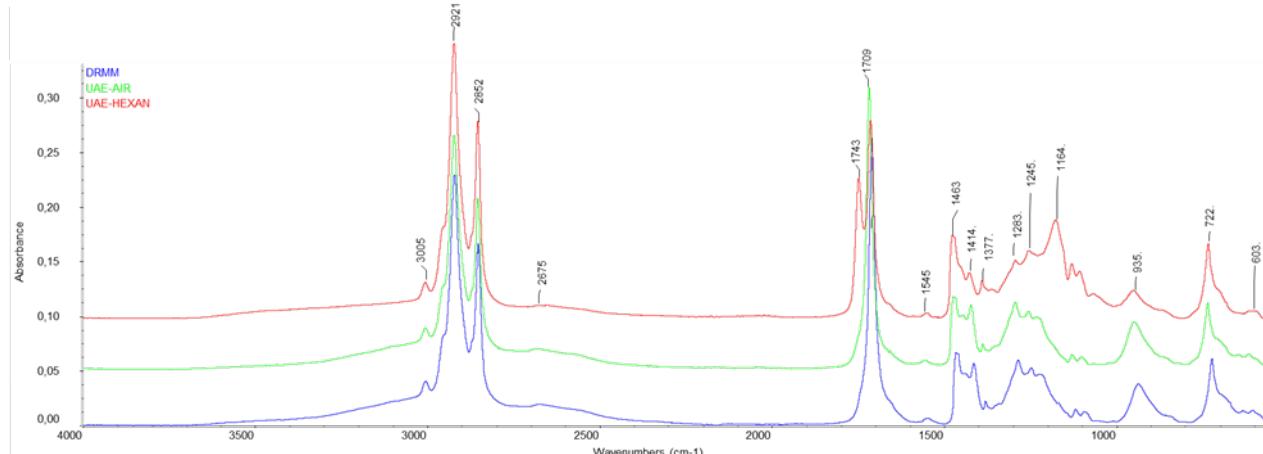
Tabel 2. Aktivitas Antioksidan pada MBA

Metode Ekstraksi	Persamaan Grafik	Nilai IC ₅₀	Kategori
Kontrol Positif	y = 1,1678x-10,979 r = 0,997	52,22 ppm	Kuat
Dry Rendering	y= 179,89x + 26,135, r = 0,989	0,13% b/v	Lemah
UAE-A	y=42,488x+8,5129, r = 0,991	0,98 % b/v	Lemah
UAE-H	y=0,0038x-5,9259, r = 0,998	1,47 % b/v	Lemah

Keterangan: Kontrol positif: Vitamin C; UAE-A: pelarut air; UAE-H: pelarut n-heksana

hanya muncul pada metode UAE dengan pelarut n-hexana. Penelitian lain ²² melaporkan autentifikasi pada minyak buah merah dengan minyak lain menghasilkan spektra IR pada bilangan gelombang 1207-1078 cm⁻¹ dan 1747-1600 cm⁻¹.

Analisis Diskriminasi Linear dapat membedakan kelompok ekstrak pada daerah 2000-650 cm⁻¹. Pada Gambar 4, Spektra FTIR pada metode *Dry Rendering*, UAE-air dan UAE- heksana pada kuadran yang berbeda



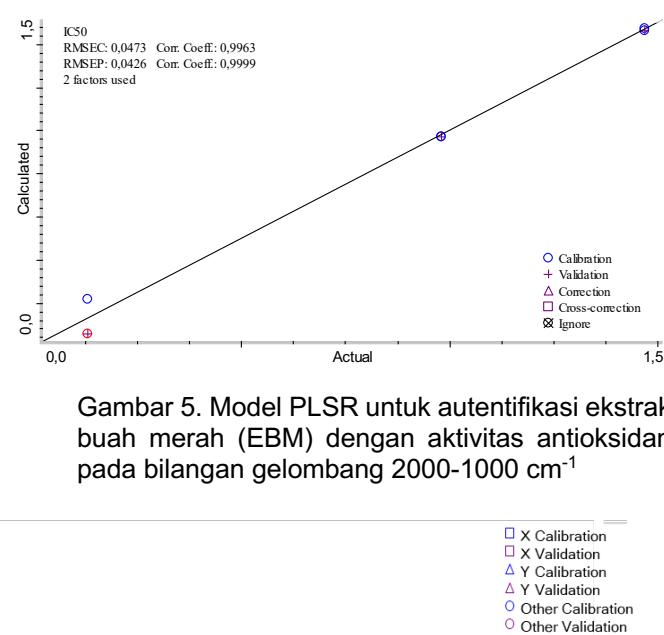
Gambar 3. Spektrum FTIR pada Buah Merah dengan Berbagai Ekstraksi pada daerah 4000-650 cm⁻¹

Metode spektroskopi FTIR dapat dimanfaatkan untuk deteksi cepat untuk analisis semi-kuantitatif untuk autentifikasi minyak buah merah pada puncak-puncak spektra tertentu ²². Pada penelitian ini didapatkan berbagai spektra yang dapat membedakan antara *dry rendering* (DRMM), UAE dengan pelarut air dan UAE dengan pelarut n-hexana pada Gambar 3. Beberapa spektra IR yang dapat membedakan minyak buah merah dengan minyak lain pada bilangan gelombang antara 1200–1050 cm⁻¹ ¹⁵. Pada penelitian ini diperoleh bilangan gelombang 1164 cm⁻¹ dan 1743 cm⁻¹ yang

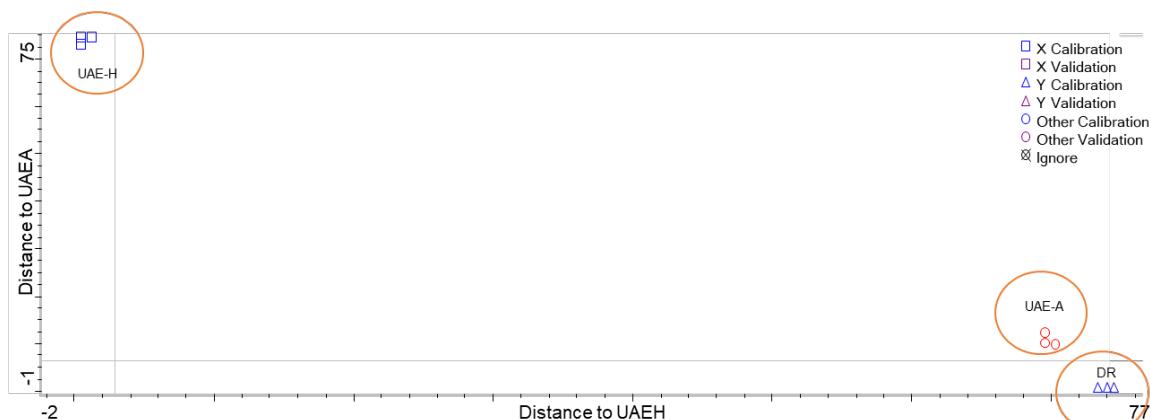
yakni UAE-H pada kuadran I, UAE-A pada Kuadran II, *dry rendering* pada Kuadran III pada Gambar 4. Bilangan gelombang yang dapat membedakan metode UAE n-heksana pada bilangan gelombang 1164 cm⁻¹ dan 1743 cm⁻¹. Hal ini dapat disimpulkan spektra FTIR dengan kemometrika dapat mengidentifikasi perbedaan metode ekstraksi buah merah²³.

Kalibrasi multivariat yang dipilih dengan model *Partial Least Squares Regression* (PLSR) pada bilangan gelombang 2000-1000 cm⁻¹ yang dievaluasi dengan nilai RMSEC, RMSEP, dan koefisien relasi (R^2)¹⁶. PLSR didapatkan RMSEC dan RMSEP

dengan R^2 yakni 0,00473; 0,0426, dan 0,9963; 0,9999 pada Gambar 5. Korelasi relasi (R^2) menunjukkan hubungan kuat antara nilai aktual dan nilai prediksi antara spektra FTIR dengan nilai IC_{50} sebesar >0,99 dengan kesalahan data rendah dari nilai *root mean square error*¹⁷. Oleh karena itu, autentifikasi EBM dari spektroskopi FTIR yang dikombinasikan dengan model PLSR membentuk suatu data kalibrasi yang baik tanpa *overfitting*²⁴.



Gambar 5. Model PLSR untuk autentifikasi ekstrak buah merah (EBM) dengan aktivitas antioksidan pada bilangan gelombang 2000-1000 cm⁻¹



Gambar 4. Analisis Diskriminan Linear untuk membedakan spektra FTIR EBM pada metode ekstraksi
(DR: Dry rendering, UAE-A: pelarut air, UAE-H: pelarut n-heksana).

Metode *dry rendering* memungkinkan pemisahan senyawa bioaktif secara lebih efisien dibandingkan UAE dengan suhu rendah. Metode tersebut memiliki keunggulan pada penggunaan suhu lebih tinggi dan tanpa pengaruh pelarut yang dapat lebih mudah mendestruksi struktur sel pada buah merah lebih baik daripada metode lain dengan suhu rendah, sehingga mudah dilepaskan senyawa bioaktif seperti minyak, lipid, atau zat larut lemak^{4,8}. Penelitian lain juga menunjukkan kestabilan warna dan kandungan total karoten pada buah merah meningkat dengan kenaikan dan lama suhu yang digunakan²⁵.

KESIMPULAN

Hasil analisis kualitatif dan kuantitatif terhadap pengaruh metode ekstraksi *dry rendering* dan UAE dengan pelarut air dan n-heksana terhadap aktivitas antioksidan pada minyak buah merah menunjukkan potensi sebagai antioksidan kategori lemah dalam menangkal radikal bebas bebas. Keterbatasan penelitian ini menunjukkan perlu adanya optimasi metode, pelarut dan suhu ekstraksi untuk meningkatkan aktivitas antioksidan. Hasil penelitian ini diharapkan mengembangkan potensi minyak buah merah dari Papua sebagai sumber minyak nabati sebagai kandidat pangan fungsional.

TERIMA KASIH

Terimakasih atas pendanaan Riset Pemula oleh Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta dengan Nomor Kontrak: SPK/177/LPPMUNJAYA/IV/2024.Terimakasi h kepada Badan Pengawas Obat dan Makanan, Unit Manokwari untuk sampling buah merah di Papua Barat.

REFERENSI

1. Palupi IA, Martosupono M. Buah merah: Potensi dan Manfaatnya sebagai Antioksidan. *The Journal of Indonesian Medicinal Plant* 2009;2(1):42–48.
2. Letviany Z, Hariyadi P, Purnomo EH. Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Mutu Kimia dan Komposisi Asam Lemak Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus*). *Jurnal Teknologi Industri Pertanian* [homepage on the Internet] 2014;24(3):209–217. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/273350504>
3. Murtiningrum, Ketaren S, Suprihatin, Kaseno. Ekstraksi Minyak dengan Metode Wet Rendering dari Buah Pandan (*Pandanus conoideus* L). *Jurnal Teknologi Industri Pertanian* 2005;
4. Susanti EP, Rohman A, Setyaningsih W. Dual Response Optimization of Ultrasound-Assisted Oil Extraction from Red Fruit (*Pandanus conoideus*): Recovery and Total Phenolic Compounds. *Agronomy* 2022;12(2).
5. Wang W, Jung J, Tomasino E, Zhao Y. Optimization of solvent and ultrasound-assisted extraction for different anthocyanin rich fruit and their effects on anthocyanin compositions. *LWT* 2016;72:229–238.
6. Kumar K, Srivastav S, Sharanagat VS. Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrason Sonochem.* 2021;70.
7. Sarungallo ZL, Hariyadi P, Andarwulan N, Purnomo EH. Keragaman Karakteristik Fisik Buah, tanaman dan Rendemen Minyak dari 9 Klon Buah Merah (*Pandanus conoideus*). Agrikan: *Jurnal Agribisnis Perikanan* 2019;12(1):70.
8. Efendi SC, Dwi Anggo A, Wijayanti I. Pengaruh Suhu Ekstraksi Pada Metode Dry Rendering Terhadap Kualitas Minyak Kasar Hati Ikan Manyung (*Arius thalassinus*). 2020;
9. Erlinaningrum M, Rohman A, Murti AA, Hastuti B. The Effects of Activated Carbon and Bentonite on Physicochemical Characterization of Red Fruit Oil (*Pandanus conoideus Lam*). *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences* [homepage on the Internet] 2024;(2):90–96. Available from: www.journal.ugm.ac.id/
10. Sundari I, Wibowo FR. Identifikasi Senyawa dalam Ekstrak Etanol Biji Buah Merah (*Pandanus conoideus*). *Biofarmasi* 2015;13(2):78–89.
11. Wigati EI, Pratiwi E, Nissa TF, Utami NF. Uji Karakteristik Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora Pierre*) dari Bogor, Bandung dan Garut dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi* 2019;8(1):53–59.
12. Sangkala SA, Jura MR, Tangkas IM. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Merah (*Pandanus baccari L*) di Daerah Poso Sulawesi Tengah. *JAkad Kim* 2014;3(4):198–205.
13. Molyneux P, Associates M. The use of the stable radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Sciences and Technology* [homepage on the Internet] 2004;26(2):211–219. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/237620105>
14. Arifah MF, Irnawati, Ruslin, Nisa K, Windarsih A, Rohman A. The Application of FTIR Spectroscopy and Chemometrics for the Authentication Analysis of Horse Milk. *Int J Food Sci* 2022;2022.
15. Rohman A, Ghazali MAIB, Windarsih A, et al. Comprehensive Review on Application of FTIR Spectroscopy Coupled with Chemometrics for

- Authentication Analysis of Fats and Oils in the Food Products. *Molecules* 2020;25(22).
16. Windarsih A, Irnawati, Rohman A. The use of FTIR Spectroscopy in Combination with Chemometrics for The Authentication of Milk Fat from Palm Oil. *IOP Conf Ser Mater Sci Eng* 2020;980(1).
17. Miller JC, Miller JN. *Chemometrics for Analytical*. 5th ed. Pearson Education Limited, 2005;
18. Gligor O, Clichici S, Moldovan R, et al. The Effect of Extraction Methods on Phytochemicals and Biological Activities of Green Coffee Beans Extracts. *Plants* 2023;12(4).
19. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* [homepage on the Internet] 1959;37(8):911–917. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13671378/>
20. Firdausia RS, Kurniasih KSI, Diani A. Analisis Potensi Antioksidan Daun Kayu Bulan (*Pisonia alba* Span.) sebagai Agen Anti Penuaan Dini. *Chimica et Natura Acta* [homepage on the Internet] 2023;11(1):22–28. Available from: <http://jurnal.unpad.ac.id/jcena>
21. Hamdo HH, Khayata W, Al-Assaf Z. Synergistic Effect of combined some natural and synthetic antioxidants to increase oxidative stability using DPPH test. Article in *International Journal of Chem Tech Research* [homepage on the Internet] 2014;6(4):2539–2545. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/280944538>
22. Rohman A, Che Man YB, Riyanto S. Authentication Analysis of Red Fruit (*Pandanus conoideus* Lam) Oil Using FTIR Spectroscopy in Combination with Chemometrics. *Phytochemical Analysis* 2011;22(5):462–467.
23. Zin NBM, Azemin A, Muslim M, Rodi M, Rashid ZM, Mohd KS. Application of FTIR fingerprints Coupled with Chemometric for Comparison of Stingless Bee Propolis from Different Extraction Methods. *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences Special Issue on International Conference on Agriculture* 2019;350–355.
24. Rohman A, Windarsih A, Riyanto S, et al. Fourier Transform Infrared Spectroscopy Combined with Multivariate Calibrations for the Authentication of Avocado Oil. *Int J Food Prop* 2016;19(3):680–687.
25. Satriyanto B, Widjanarko SB. Heat Stability of Red Fruit Extract Color as Potential Source of Natural Pigments. *Jurnal Teknologi Pertanian* 2012;13(3):157–168.