

SIFAT PROOKSIDATIF FORTIFIKAN NaFeEDTA DAN Fe-SULFAT PADA KECAP HASIL FORTIFIKASI

Prooxidative Effect of NaFeEDTA and Fe-sulphate Fortificants in Fortified Soy Sauce

Sri Naruki¹, Mary Astuti¹, Yustinus Marsono¹, dan Sri Raharjo¹

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh penambahan fortifikan NaFeEDTA dan FeSO₄ pada kecap manis, terhadap angka peroksida dan angka TBARS komponen minyak, serta kadar senyawa karbonil komponen asam amino pada larutan kecap model. Sebagai kontrol, digunakan kecap tanpa fortifikasi. Dosis fortifikan adalah 266 mg Fe/L kecap. Pengaruh penambahan H₂O₂ terhadap peningkatan oksidasi juga dievaluasi. Berdasarkan data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa bila tidak ada penginduksi oksidasi, maka NaFeEDTA maupun FeSO₄ tidak memicu oksidasi komponen minyak maupun asam amino. Adanya penginduksi oksidasi, dalam hal ini H₂O₂, terbukti meningkatkan laju oksidasi, yang tercermin dengan adanya kenaikan angka peroksida, angka TBARS, dan kadar senyawa karbonil. Peningkatan laju oksidasi yang terjadi pada kecap hasil fortifikasi dengan NaFeEDTA tidak lebih besar daripada peningkatan pada kecap hasil fortifikasi menggunakan FeSO₄.

Kata kunci: *Fortifikasi, NaFeEDTA, angka peroksida, angka TBARS, senyawa karbonil*

ABSTRACT

Iron in iron-fortified soy sauce may have oxidative effect in both oil and amino acids or protein component. In order to evaluate the possible oxidative properties of both NaFeEDTA and FeSO₄ fortificants, a study of oxidation in soy sauce fortified with the fortificants was conducted. Level of fortificant was 266 mg Fe/L of soy sauce. The extent of oxidation was measured by the level of peroxide value and TBARS value of oil component of fortified soy sauce, as well as carbonyls content of soy sauce model. The effect of H₂O₂ addition on level of oxidation was also evaluated. It was found that in soy sauce fortified with either NaFeEDTA or FeSO₄, the fortificants did not promote oxidation of oil and amino acids components. However, addition of H₂O₂ made peroxide value, TBARS value, and carbonyls content of fortified samples increased.

Keywords: *Fortification, NaFeEDTA, peroxide value, TBARS value, carbonyls content*

PENDAHULUAN

Defisiensi zat besi merupakan salah satu problema defisiensi zat gizi di dunia, termasuk Indonesia. Salah satu cara penanggulangan yang tampaknya menjanjikan adalah fortifikasi zat besi. Dari segi biaya, fortifikasi dianggap cukup efektif. Berbeda dengan pemberian tablet zat besi, fortifikasi ini dapat dengan mudah diterapkan secara berkesinambungan pada populasi yang menjadi target karena tambahan asupan zat besi dapat berlangsung tanpa disadari oleh konsumen (Anonim, 2001; Fidler dkk., 2002).

Dalam fortifikasi, diperlukan adanya makanan pembawa, yang berperan sebagai media pembawa bagi fortifikan. Kecap kedelai manis dapat dipilih sebagai makanan pembawa karena produk tersebut digemari dan dikonsumsi secara meluas. Selain itu, kecap memiliki warna coklat gelap dengan citarasa yang relatif kuat, sehingga perubahan warna dan citarasa yang mungkin timbul akibat fortifikasi, tidak mengganggu kenampakan dan citarasa kecap.

Fortifikasi zat besi menjadi tidak efektif bila diterapkan pada masyarakat dengan pola diet yang kaya dengan bahan nabati, seperti halnya yang terjadi di Indonesia. Hal ini

¹ Program Studi Ilmu Pangan, Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jl. Sosio Yustisia, Yogyakarta 55281.

disebabkan karena pada pangan nabati terdapat beberapa komponen yang dapat menghambat absorpsi zat besi oleh tubuh, antara lain senyawa fitat. Sebagai contoh, absorpsi zat besi pada bahan nabati seperti jagung, bayam, dan gandum hanya mencapai 5%; jauh lebih kecil daripada absorpsi pada daging, yang dapat mencapai 10% (Reddy, dkk., 2000; Samman dkk., 2001; Lynch, 2002; Anonim, 2004).

Dari beberapa penelitian terakhir terungkap bahwa NaFeEDTA (sodium iron (Fe^{3+}) ethylenediaminetetraacetic acid) dapat meningkatkan bioavailabilitas zat besi fortifikan (Heimbach dkk., 2000; Fidler dkk., 2002). Hal ini disebabkan karena Fe pada EDTA tidak dapat diikat oleh senyawa fitat maupun senyawa penghambat lainnya, sehingga absorpsi zat besi menjadi tidak terganggu (Lynch, 2002). Fortifikan NaFeEDTA juga tidak menimbulkan perubahan warna dan citarasa, serta tidak mengakibatkan pengendapan selama penyimpanan produk (Fidler dkk., 2002). Studi pendahuluan menunjukkan bahwa kecap kedelai manis hasil fortifikasi menggunakan NaFeEDTA sebanyak 2.000 ppm tidak mengakibatkan perubahan sifat organoleptik dan tetap disukai panelis (Naruki, 2004, data belum dipublikasi).

Satu hal yang masih mendatangkan kontroversi adalah kekhawatiran bahwa zat besi fortifikan dalam produk makanan hasil fortifikasi dapat menimbulkan efek oksidatif, baik terhadap komponen lemak/minyak maupun protein/asam amino. Oksidasi lemak/minyak dan protein dalam tubuh sering dikaitkan penuaan dini dan beberapa kondisi patologik seperti aterosklerosis, penyakit Alzheimer, dan artritis reumatoid (Leeuwenburgh dkk., 1997; Berlett dan Stadtman, 1997; Shacter, 2000).

Dalam sistem pangan, oksidasi lemak/minyak akan menghasilkan peroksida, "thiobarbituric acid reactive substances" (disingkat TBARS), dan citarasa tengik. Zat besi diketahui dapat bertindak sebagai katalis dalam pembentukan TBARS (Raharjo, 2004). Secara umum, peroksida dan TBARS digunakan sebagai parameter tingkat kerusakan lemak/minyak akibat oksidasi. Dari segi organoleptik, citarasa tengik umumnya berperan sebagai faktor penentu dalam penerimaan konsumen terhadap produk (Gordon, 1990; Santosa dkk., 1996).

Reaksi oksidasi terhadap protein akan menghasilkan senyawa karbonil. Semua jenis asam amino dapat terlibat dalam reaksi oksidasi. Sama halnya dengan oksidasi lemak, zat besi dapat bertindak sebagai katalis dalam oksidasi protein. Selain itu, H_2O_2 , sinar ultra violet, dan asap rokok diketahui dapat memacu pula terjadinya oksidasi (Yan dkk., 1997; Berlett dan Stadtman, 1997; Shacter, 2000).

Dalam diet, kecap berperan sebagai penyedap; bukan merupakan sumber minyak maupun protein. Hal ini disebabkan karena kecap mengandung minyak maupun protein dalam jumlah yang relatif kecil dan dikonsumsi dalam

jumlah yang relatif sedikit. Kadar minyak kecap umumnya lebih rendah dari 1%, sedangkan kadar protein berkisar antara 2 – 6% (Anonim, 1994). Meskipun kadarnya rendah, oksidasi komponen minyak dan protein kecap menjadi penting karena peristiwa kimiawi tersebut dapat menghasilkan perubahan citarasa kecap yang tidak dikehendaki.

Untuk mengetahui kemungkinan adanya sifat prooksidatif NaFeEDTA, telah dilakukan penelitian oksidasi pada kecap hasil fortifikasi dengan NaFeEDTA maupun Fe-sulfat. Tingkat oksidasi ditera melalui penentuan angka peroksida, angka TBARS, dan kadar senyawa karbonil. Selain itu, dipelajari pula pengaruh penambahan H_2O_2 terhadap tingkat oksidasi yang terjadi.

METODA PENELITIAN

Bahan

Kecap manis merk tertentu, yang dibuat dari kedelai hitam (*Glicine max* L.) non-GMO, garam dapur (NaCl), gula kelapa, dan air, tanpa penambahan bumbu, diperoleh dari toko swalayan di Yogyakarta. NaFeEDTA yang digunakan diperoleh dari Akzo Nobel CNF, Jakarta. Bahan kimia, antara lain Fe-sulfat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), Na-tiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), thiobarbituric acid (TBA); 1,1,3,3-tetraetoxipropan (TEP); aseton; 2,4-dinitrofenylhidrazin (DNPH), dan asam amino, diperoleh dari MERCK.

Fortifikasi Kecap

Dalam penelitian ini digunakan tiga jenis sample, yaitu kecap tanpa fortifikasi (sebagai kontrol), kecap dengan 2.000 ppm fortifikan NaFeEDTA (setara 266 mg Fe/L kecap), dan kecap dengan FeSO_4 (kadar 266 mg Fe/L kecap). Untuk membuat kecap yang mengandung 2.000 ppm NaFeEDTA, 2.000 mg NaFeEDTA dilarutkan dalam 20 mL aquades. Larutan tersebut ditambahkan ke dalam 1.000 mL kecap yang telah diketahui beratnya. Selanjutnya kecap dipanaskan beberapa saat sampai dicapai berat semula. Fortifikasi kecap menggunakan Fe- SO_4 dilakukan dengan cara yang sama. Untuk 1.000 mL kecap, diperlukan 1.301 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, yang setara dengan 266 mg Fe.

Pembuatan Kecap Model

Dalam penelitian ini, kadar senyawa karbonil ditera secara spektrofotometrik. Warna coklat gelap pada kecap ternyata mengganggu peneraan absorbansi. Untuk mengatasi hal tersebut, sebagai sampel digunakan kecap model; yang mencerminkan kandungan asam amino kecap, namun tidak mengandung unsur pengganggu.

Sebelum pembuatan kecap model, pertama kali dilakukan analisis komposisi asam amino kecap. Berdasarkan

data yang diperoleh, dibuat kecap model dengan jalan melarutkan beberapa asam amino dengan komposisi tertentu (112 mg asam aspartat, 33 mg treonin, 42 mg serin, 505 mg asam glutamat, 55 mg glisin, 51 mg alanine, 39 mg valin, 31 mg isoleusin, 36 mg leusine, 22 mg tirosin, 25 mg fenilalanin, 11 mg histidin, 23 mg arginin, dan 40 mg prolin) ke dalam 100 mL H₂O; sehingga diperoleh larutan model dengan komposisi asam amino yang sama dengan kecap. Fortifikasi kecap model dilakukan dengan cara yang sama seperti yang telah diterangkan sebelumnya.

Penentuan Angka Peroksida

Angka peroksida ditentukan menurut prosedur standar AOAC (1995). Mula-mula, minyak diekstrak dari 60 g kecap hasil fortifikasi. Minyak hasil ekstraksi selanjutnya dilarutkan dalam 50 mL campuran asam asetat dan kloroform (3:2 v/v) dan digojog perlahan. Sebagai penginduksi oksidasi digunakan H₂O₂ (1 : 49 v/v) dengan variasi penambahan berturut-turut adalah 0, 125, 250, dan 500 µL. Penambahan H₂O₂ masing-masing dilakukan terhadap 10 mL larutan minyak tersebut. Selanjutnya dilakukan pula penambahan 0,5 mL larutan KI jenuh dalam H₂O. Kemudian sampel dibiarkan selama satu menit, untuk selanjutnya ditambah 30 mL H₂O. Akhirnya sampel dititrasi dengan 0.01 N Na-tiosulfat, dengan indikator amilum. AP dinyatakan sebagai mili-equivalen peroksida/g minyak.

Penentuan Angka TBARS

Angka TBARS ditentukan dengan menggunakan prosedur Tarladgis dkk. (1960). Sampel kecap hasil fortifikasi sebanyak 3 mL, dilarutkan dalam 100 mL H₂O. Untuk menginduksi oksidasi, ke dalam larutan sampel dilakukan penambahan H₂O₂ (1 : 49 v/v). Variasi penambahan H₂O₂ yang dilakukan adalah 0, 500, dan 1000 µL.

TBARS diekstrak dengan cara distilasi pada 100 °C, setelah terlebih dahulu dilakukan penambahan 1,5 mL HCl 25 % ke dalam larutan sampel. Proses ekstraksi dihentikan setelah diperoleh sekitar 75 mL distilat. Distilat ini selanjutnya ditambah H₂O sampai volumenya mencapai 100 mL. Kemudian 1mL distilat tersebut dicampur dengan 1,5 mL H₂O dan 2,5 mL larutan TBA (0.02 M TBA dalam asam asetat). Campuran selanjutnya dipanaskan pada suhu 100 °C selama 35 menit, menggunakan penangas air mendidih sehingga terbentuk senyawa kompleks berwarna merah jambu. Setelah didinginkan, terhadap campuran tersebut dilakukan pengukuran absorbansi secara spektrofotometri pada panjang gelombang 528nm. Sebagai standar, digunakan TEP. Angka TBARS dinyatakan dalam µmol MDA/g minyak.

Penentuan Kadar Senyawa Karbonil

Dalam analisa ini, sebagai penginduksi oksidasi digunakan H₂O₂, yang dibuat dengan melarutkan 1 mL H₂O₂ dalam 499 mL H₂O. Kadar senyawa karbonil ditera secara spektrofotometrik dengan penggunaan DNPH sebagai bahan kimia yang spesifik terhadap karbonil, sebagaimana yang telah dilaporkan oleh Yan dkk. (1997).

Kecap model sebanyak 0,5 mL digunakan sebagai sampel analitik. Untuk menginduksi oksidasi, dilakukan penambahan H₂O₂ ke dalam sampel. Variasi penambahan H₂O₂ berturut-turut adalah 0, 50, 100, dan 150 µL; disusul dengan penambahan H₂O, berturut-turut sebanyak 500, 450, 400, dan 350 µL, sehingga dicapai volume akhir masing-masing sebesar 1,0mL. Kemudian dilakukan penambahan 1,0 mL DNPH dan satu tetes HCl 37 %. Campuran tersebut dipanaskan pada suhu 50 °C selama 30 menit, menggunakan penangas air; disusul dengan pendinginan dengan air mengalir dan penambahan 8.0 mL KOH (1,0 N). Setelah penggojogan, absorbansi campuran diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 480 nm. Sebagai standar digunakan aseton. Kadar senyawa karbonil dinyatakan sebagai mg aseton/mL larutan kecap model.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh NaFeEDTA terhadap Angka Peroksida

Evaluasi tentang pengaruh fortifikan zat besi terhadap angka peroksida komponen minyak yang diekstrak dari kecap hasil fortifikasi, menghasilkan data yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Angka peroksida komponen minyak kecap hasil fortifikasi, dengan atau tanpa penambahan H₂O₂

Penambahan H ₂ O ₂ (µL) Fortifikan	Angka peroksida (mili-equivalen peroksida/g minyak)			
	0	125	250	500
Kontrol	0,06 ^e	2,64 ^e	5,03 ^e	9,38 ^a
NaFeEDTA	0,02 ⁱ	1,92 ^f	3,72 ^d	7,57 ^b
Fe-sulfat	0,05 ^h	2,04 ^f	3,68 ^d	6,98 ^b

Catatan:

Huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata dengan α 0,05

Data pada tabel tersebut menunjukkan bahwa fortifikasi kecap dengan zat besi, baik dalam bentuk NaFeEDTA maupun Fe-sulfat, terbukti menghasilkan angka peroksida yang lebih

rendah daripada kontrol. Hal ini disebabkan karena senyawa peroksida (ROOH) merupakan produk antara (“intermediate products”) dari rangkaian reaksi oksidasi minyak. Adanya zat besi akan memicu laju reaksi lanjutan senyawa peroksida tersebut, dengan produk akhir berupa senyawa aldehid dan keton. Laju degradasi senyawa peroksida yang berlangsung lebih cepat tersebut akan menurunkan akumulasi senyawa peroksida yang ada. Pada kontrol, laju reaksi degradasi senyawa peroksida berlangsung lebih lambat sehingga akumulasi senyawa peroksida akan relatif lebih banyak. Penambahan H₂O₂ mengakibatkan peningkatan angka peroksida, baik pada sampel hasil fortifikasi dengan NaFeEDTA maupun Fe-sulfat. Keduanya menghasilkan peningkatan angka peroksida yang sama besar.

Pengaruh NaFeEDTA terhadap Angka TBARS

Tabel 2 menunjukkan pengaruh jenis fortifikan dan penambahan H₂O₂ terhadap angka TBARS. Bila tidak ada “inducer” H₂O₂, fortifikasi kecap menggunakan NaFeEDTA maupun Fe-sulfat terbukti tidak menaikkan angka TBARS. Jadi dapat dinyatakan bahwa dalam kondisi yang terlindung dari pemicu oksidasi, maka fortifikasi kecap dengan 2.000 ppm NaFeEDTA tidak menimbulkan pengaruh yang merugikan terhadap komponen minyak kecap.

Tabel 2. Angka TBARS komponen minyak kecap hasil fortifikasi, dengan atau tanpa penambahan H₂O₂

Penambahan H ₂ O ₂ (mL) Fortifikan	Angka TBARS (µg malonaldehid/g minyak)		
	0,0	0,5	1,0
Kontrol	8,12 ^c	56,97 ^d	114,90 ^e
NaFeEDTA	7,78 ^c	132,04 ^{bc}	160,25 ^b
Fe-sulfat	6,73 ^c	112,03 ^c	273,78 ^a

Catatan:

Huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata dengan α 0,05

Data yang diperoleh juga menunjukkan bahwa penambahan penginduksi H₂O₂ dapat meningkatkan angka TBARS, baik pada sampel kecap hasil fortifikasi dengan NaFeEDTA maupun Fe-sulfat. Fortifikan NaFeEDTA mengakibatkan peningkatan angka TBARS yang tidak lebih besar daripada fortifikan Fe-sulfat. Ini berarti bahwa sifat prooksidatif NaFeEDTA relatif lebih kecil daripada sifat prooksidatif Fe-sulfat.

Pengaruh NaFeEDTA terhadap Kadar Senyawa Karbonil

Data tentang pengaruh jenis fortifikan dan penambahan H₂O₂ terhadap kadar senyawa karbonil larutan kecap model dapat dilihat pada Tabel 3. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa bila tidak ada penginduksi H₂O₂, maka NaFeEDTA maupun Fe-sulfat tidak meningkatkan laju oksidasi asam amino, sehingga menghasilkan kadar senyawa karbonil yang sama dengan kontrol. Jadi dapat dinyatakan bahwa dalam kondisi yang terlindung dari pemicu oksidasi, maka fortifikasi kecap dengan 2.000 ppm NaFeEDTA tidak mengakibatkan pengaruh yang merugikan terhadap komponen asam amino.

Tabel 3. Kadar senyawa karbonil kecap model, dengan atau tanpa penambahan H₂O₂

Penambahan H ₂ O ₂ (µL) Fortifikan	Kadar senyawa karbonil (µg aseton/mL larutan model)			
	0	50	100	150
Kontrol	0,54 ^d	6,39 ^d	7,72 ^d	8,87 ^d
NaFeEDTA	3,51 ^d	58,46 ^e	82,52 ^b	108,86 ^a
Fe-sulfat	14,53 ^d	64,14 ^e	87,29 ^b	110,81 ^a

Catatan:

Huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata dengan α 0,05

Pada kecap model yang hanya mengandung asam amino, penambahan H₂O₂ dapat meningkatkan produksi senyawa karbonil, sebagai produk oksidasi asam amino. Produksi senyawa karbonil tersebut semakin meningkat dengan semakin banyaknya H₂O₂ yang ditambahkan. Data yang diperoleh juga menunjukkan bahwa fortifikan NaFeEDTA maupun Fe-sulfat mengakibatkan peningkatan kadar senyawa karbonil yang sama besar. Ini membuktikan bahwa sifat prooksidatif NaFeEDTA tidak lebih besar daripada Fe-sulfat. Dengan demikian, penggunaan NaFeEDTA sebagai fortifikan diharapkan dapat meningkatkan bioavailabilitas zat besi, namun tidak mendatangkan pengaruh yang merugikan terhadap komponen minyak maupun asam amino/protein kecap.

KESIMPULAN

Berdasarkan data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa keberadaan NaFeEDTA maupun Fe-sulfat dalam kecap hasil fortifikasi (266 mg Fe/L kecap), tidak memicu oksidasi komponen minyak maupun asam amino, jika

tidak ada pemicu oksidasi. Namun demikian, H₂O₂, dapat meningkatkan laju oksidasi, yang tercermin dengan adanya kenaikan angka peroksida, angka TBARS, dan kadar senyawa karbonil.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan banyak terima kasih kepada PT. Unilever Indonesia Tbk., Jakarta, Indonesia, atas bantuan yang diberikan, baik berupa bantuan finansial maupun fortifikasi NaFeEDTA. Selain itu, ucapan terima kasih juga disampaikan kepada QUE Project, Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, atas bantuan finansial yang diberikan demi kelancaran penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim (1994). *Mutu dan Cara Uji Kecap*. Standar Nasional Indonesia. Dewan Standardisasi Nasional.
- Anonim (2001). *Food Fortification Development in Indonesia*. Food Fortification Commission of Indonesia, UNICEF, Center for Food and Nutrition Policy Studies – Bogor Agricultural University, and Food Communication Forum of Indonesia.
- Anonim (2004). *Dietary Supplement Fact Sheet: Iron*. Office of Dietary Supplement. Warren G. Magnuson Clinical Centre. National Institute of Health. USA.
- AOAC (1995). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Sixteenth Edition, Volume I. AOAC International, Maryland, USA.
- Berlett, B.S. dan Stadtman, E.R. (1997). Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry* **272**: 20313-20316.
- Fidler, M, Davidsson, L., Walczyk, T. dan Hurrell, R.F. (2002). *Iron Bioavailability from Iron Fortified Fish Sauce and Soy Sauce*. Eidgenossische Technische Hochschule. Zurich.
- Gordon, M.H. (1990). The mechanism of antioxidant action in vitro. *Dalam: Hudson, B.J.F. (ed.). Food Antioxidants*, hal. 1-18. Elsevier Applied Science, London dan New York.
- Heimbach, J., Rieth, S., Mohamedshah, F., Slesinki, R., Samuel-Fernando, P., Sheehan, T., Dickman, R. dan Borzelleca, J. (2000). Safety assesment of iron EDTA [sodium iron (Fe³⁺) ethylenediaminetetraacetic acid]: summary of toxicological, fortification, and exposure data. *Food and Chemical Toxicology* **38**: 99-111.
- Leeuwenburgh, C., Rasmussen, J.E., Hsu, F.F., Mueller, D.M., Pennathur, S. dan Heinecke, J.W. (1997). Mass spectrometric quantification of marker for protein oxidation by tyrosyl radical, copper, and hydroxyl radical in low density lipoprotein isolated from human atherosclerosis plaques. *Journal of Biological Chemistry* **272**: 3520-3526.
- Lynch, S. (2002). Food iron absorption and its importance for the design of food fortification strategies. *Nutrition Review* **60** : S3-S6.
- Naruki, S. (2004). Fortifikasi Kecap dengan NaFeEDTA. Data belum dipublikasi.
- Raharjo, S. (2004). *Kerusakan Oksidatif pada Makanan*. Pusat Studi Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Jogjakarta, Indonesia.
- Reddy, M.B., Hurrell, R.F. dan Cook, J.D. (2000). Estimation of nonheme-iron bioavailability from meal composition. *American Journal of Clinical Nutrition* **71**: 937-943.
- Santosa, U., Kubo, K., Ota, T., Tadokoro, T. dan Maekawa, A (1996). Antioxidative effect of coconut (*Cocos nucifera* L.) water extract on TBARS value in lever of rat fed fish oil diet. *Indonesian Food and Nutrition Progress* **3**: 42-50.
- Samman, S., Sandstrom, B., Toft, M.B., Bukhave, K., Jensen, M., Sorensen, S.S. dan Hansen, M. (2001). Green tea or rosemary extract added to foods reduces nonheme-iron absorption. *American Journal of Clinical Nutrition* **73**: 607-612.
- Shacter, E. (2000). Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metabolism Review* **32**: 307-326.
- Tarladgis, B.G., Watts, B.M. dan Younathan, M.T. (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal of American Oil Chemistry Society* **37**: 44.
- Yan, L.J., Lodge, J.K., Traber, M.G., Matsugo, S. dan Packer, L. (1997). Comparison between copper-mediated and hypochlorite-mediated modifications of human low density lipoproteins evaluated by protein carbonyl formation. *Journal of Lipid Research* **38**: 992-1001.