

Analysis of Total Antioxidant Capacity on Ingredients of Lotek Menu by Ferric Reducing Antioxidant Power Assay

Reni Banowati Istiningrum

Program D III Analis Kimia Universitas Islam Indonesia,
Jl. Kaliurang Km. 14,5 Yogyakarta (reni_banowati@uii.ac.id)

ABSTRACT

Total Antioxidant Capacity (TAC) determination has been made in the vegetable component of lotek with Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) methods. Samples was crushed and then extracted with water as a polar solvent and centrifuged. The residue was extracted again with acetone as a non-polar solvent. The extract is then reacted with FRAP reagent and the absorbance measured by UV-Vis spectrophotometer at 595 nm. TAC values expressed as mM/mL extract of vegetables component of lotek for the water extract of green beans, peanuts, bean sprouts, cabbage, cucumbers, tomatoes, and spinach respectively is 2,72; 6,79; 1,26; 0,89; 0,33; 1,86; 1,85 mM /mL extract, while the acetone extract is 1,42; 5,41; 0,44; 0,32; 0,25; 1,09; 0,93 mM/mL extract. The three largest contribution to the total TAC is a water extract of peanuts, acetone extract of peanut and water extract of green beans respectively is 25,56; 21,16 and 10,66%

Keywords: lotek, TAC, FRAP, spectrophotometer UV-Vis

ABSTRAK

Telah dilakukan penentuan *Total Antioxidant Capacity* (TAC) dalam sayuran penyusun menu makanan lotek dengan uji *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP). Sampel dihaluskan kemudian diekstraksi dengan air sebagai pelarut polar dan disentrifus. Residu diekstrak kembali dengan aseton sebagai pelarut non polar. Ekstrak kemudian direaksikan dengan reagen FRAP dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada 595 nm. Nilai TAC yang dinyatakan mM/mL ekstrak dari sayuran penyusun menu makanan lotek untuk ekstrak air kacang panjang, kacang tanah, kecambah, kubis, timun, tomat, dan bayam berturut-turut adalah 2,72 ; 6,79 ; 1,26 ; 0,89 ; 0,33 ; 1,86 ; 1,85 mM/mL ekstrak, sedangkan untuk ekstrak aseton adalah 1,42 ; 5,41 ; 0,44 ; 0,32 ; 0,25 ; 1,09 ; 0,93 mM/mL ekstrak. Adapun tiga terbesar untuk kontribusi terhadap TAC total adalah ekstrak air kacang tanah, ekstrak aseton kacang tanah dan ekstrak air kacang panjang yaitu berturut-turut 25,56 ; 21,16 ; dan 10,66 %.

Kata Kunci : lotek, TAC, FRAP, spektrofotometer UV-Vis

Pendahuluan

Tidak bisa dihindari lagi bahwa manusia hidup dalam lingkungan yang semakin tidak sehat. Lingkungan tak sehat tersebut antara lain ditimbulkan oleh polusi udara yang diakibatkan oleh penggunaan kendaraan bermotor yang meningkat pesat, berdirinya pabrik-pabrik,

sengatan UV akibat ozon yang menipis serta kebiasaan mengkonsumsi makanan dan minuman yang tidak sehat. Akibatnya, tubuh manusia menjadi terpapar radikal bebas dan akhirnya menimbulkan resiko berbagai penyakit. Spesies oksigen aktif (atau reaktif) dan reaksi yang melibatkan radikal bebas

berimplikasi pada proses degeneratif dan patologis pada tubuh seperti penuaan (Ames *et al.*, 1993; Harman, 1995), kanker, penyakit jantung koroner, dan penyakit Alzheimer's (Ames *et al.*, 1983; Gey, 1990; Smith *et al.*, 2000).

Oleh karena itu, penggunaan senyawa antioksidan mulai berkembang, baik untuk makanan maupun pengobatan. Penggunaan sebagai obat mulai berkembang seiring dengan makin bertambahnya pengetahuan tentang aktifitas radikal bebas terhadap beberapa penyakit degeneratif seperti penyakit jantung dan kanker (Boer, 2000).

Berbagai penelitian melaporkan bahwa sumber antioksidan yang paling besar adalah sayuran dan buah-buahan. Telah banyak bukti epidemiologis yang menunjukkan adanya hubungan antara konsumsi sayuran dan buah segar dengan penurunan resiko menderita berbagai penyakit seperti kanker (Yeum *et al.*, 2003; Salah *et al.*, 1995).

Senyawa antioksidan digolongkan ke dalam dua kelompok berdasarkan kelarutannya yaitu antioksidan hidrofilik (larut dalam air) seperti senyawa fenolik dan asam askorbat dan antioksidan lipofilik (larut dalam lemak) seperti karotenoid dan vitamin E (Al-Farsi *et al.*, 2005).

Berdasarkan data Susenas BPS tahun 2013, peningkatan konsumsi sayuran dan buah-buahan perlu digalakkan kembali mengingat data konsumsi sayuran dan buah-buahan yang

masih rendah. Data Susenas 2013 menunjukkan rata-rata konsumsi sayuran dan buah-buahan berturut-turut adalah 34,9 dan 35,6 kkal/perkapita/hari yang jauh di bawah Pola Pangan Harapan (PPH) nasional yang mencapai 120 kkal/perkapita/hari (www.bps.go.id).

Salah satu menu makanan yang komposisinya terdiri dari sayuran dan buah segar adalah Lotek. Walaupun ada beberapa variasi Lotek tetapi biasanya Lotek terdiri dari bayam, kubis, kacang panjang, tauge, tomat, ketimun yang diberi bumbu kacang dan ketupat sebagai sumber karbohidratnya. Bayam, kacang panjang dan tauge biasanya direbus sedangkan sisanya hanya dipotong-potong. Dari komposisinya, Lotek diperkirakan mempunyai *Total Antioxidant Capacity* (TAC) yang cukup tinggi.

TAC adalah kapasitas antioksidan kumulatif yang terdapat dalam suatu sampel tanpa menunjukkan jenis senyawa aktifnya. TAC diukur dari ekstrak murni sampel baik ekstrak polar maupun non polar. Beberapa metode telah dikembangkan untuk mengukur TAC suatu sampel antara lain melalui uji *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity* (TEAC), *Total Radical Absorption Potentials* (TRAP), *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) dan *Oxygen Radical Absorption Capacity* (ORAC) (Pellegrini *et al.*, 2003)

Dalam penelitian ini, TAC diukur melalui uji FRAP. Uji FRAP dipilih karena

prosedurnya yang sederhana yaitu dengan mengukur perubahan absorbansi kompleks Fe^{2+} -TPTZ pada 593 nm dengan Spektrofotometer UV-Vis. Absorbansi kompleks Fe^{2+} -TPTZ sebanding dengan banyaknya kompleks Fe^{3+} -TPTZ (suatu oksidator) yang tereduksi oleh antioksidan sampel. Pengujian FRAP didasarkan pada reaksi transfer elektron dari antioksidan ke senyawa Fe^{3+} -TPTZ. Senyawa Fe^{3+} -TPTZ sendiri mewakili senyawa oksidator yang mungkin terdapat dalam tubuh dan dapat merusak sel-sel tubuh (Ou *et al.*, 2002).

Dari hasil penelitian ini, diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang menu makanan sehat yang banyak mengandung antioksidan dan meningkatkan konsumsi sayuran dan buah-buahan. Sehingga, akhirnya akan meningkatkan budaya hidup sehat.

Tujuan Penelitian

Ada beberapa tujuan yang akan dicapai dalam penelitian ini, yaitu:

1. Menentukan nilai TAC dari ekstrak air dan aseton bahan penyusun menu makanan lotek dengan uji FRAP.
2. Menentukan nilai kontribusi masing-masing ekstrak terhadap nilai TAC

Metode Penelitian

Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kacang panjang, kacang tanah, bayam, tomat, timun, kecambah dan kubis. Sedangkan bahan kimia yang digunakan adalah akuades, aseton, TPTZ (*2,4,6-tripyridyl-s-triazine*), HCl, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, bufer asetat (pH 3,6), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, seperangkat alat gelas, stirer, sentrifus, dan Spektrofotometer UV-Vis

Cara Kerja

Preparasi Sampel

Sebanyak 100 g sampel dipotong-potong dan dimasukkan dalam blender. Kemudian ditambah 400 mL akuades dan dihaluskan. Sebanyak 50 g sampel halus ditambah 50 mL akuades dan distirer selama 15 menit kemudian disaring. Filtrat disentrifus selama 10 menit dan diambil supernatnya. Sedangkan residu ditambah 50 mL aseton dan distirer selama 15 menit kemudian disaring. Filtrat disentrifus selama 10 menit dan diambil supernatnya. Ekstraksi ini dilakukan untuk semua sampel sehingga diperoleh ekstrak air dan aseton untuk masing-masing sampel.

Penentuan λ_{maks} dan kurva kalibrasi

Deret larutan standar dibuat menggunakan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dengan konsentrasi Fe^{2+} berturut-turut : 0,01; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; dan 0,25 mM. Adapun komposisi larutan adalah 1 mL larutan standar Fe^{2+} adalah 1 mL larutan TPTZ 10 mM dalam 40 mM HCl, dan 10 mL bufer asetat (pH 3,6). Dari larutan standar tersebut dipilih salah satu untuk dicari λ_{maks} pada rentang 450-700 nm dengan blanko larutan TPTZ ditambah bufer asetat. Setelah diperoleh λ_{maks} , masing-masing larutan standar diukur absorbansinya pada λ_{maks} tersebut sehingga diperoleh kurva kalibrasi yang linier.

Penentuan nilai TAC ekstrak air dan aseton dengan uji FRAP

Reagen FRAP disiapkan dengan mencampurkan 1 mL larutan TPTZ 10 mM dalam 40 mM HCl, 1 mL larutan FeCl_3 20 mM dan 10 mL bufer asetat (pH 3,6). Nilai TAC sampel ditentukan dengan mencampurkan 3 mL reagen FRAP dan 0,1 mL ekstrak sampel kemudian dikocok dan diukur absorbansinya selama 30 menit. Sebagai blanko digunakan reagen FRAP. Uji ini dilakukan baik untuk ekstrak air maupun ekstrak aseton.

Pembahasan

Penelitian ini menguji kapasitas antioksidan yang terkandung pada bahan

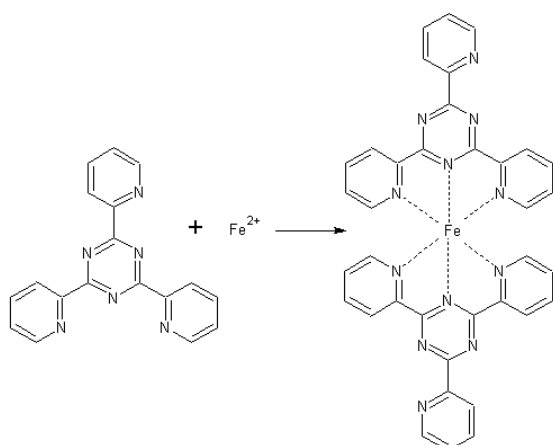
penyusun menu makanan lotek. Terdapat beberapa variasi bahan penyusun lotek, tetapi umumnya bahan utamanya adalah bayam, kacang panjang, kecambah, kubis, tomat, dan bumbu yang terbuat dari kacang tanah.

Sampel dipreparasi dengan cara dihaluskan dengan menggunakan blender dan diekstrak melalui dua tahap yaitu diekstrak dengan air dan dilanjutkan dengan aseton. Prosedur ini dilakukan untuk mengekstrak senyawa antioksidan yang larut dalam air sedangkan aseton berfungsi untuk mengekstrak senyawa fenol yang masih tersisa dalam residu sampel (Reis *et al.*, 2012).

Menurut Alothman *et al.*, (2009) polaritas dari pelarut secara tidak langsung berperan dalam proses ekstraksi karena akan meningkatkan kelarutan senyawa antioksidan. Shian *et al.*, (2012) yang dalam penelitiannya menggunakan pelarut air, aseton, etanol dan metanol, untuk mengekstrak senyawa antioksidan dalam tiga sampel buah pisang, menyatakan tidak mungkin mengembangkan suatu pelarut standar yang dapat mengekstrak semua senyawa antioksidan dalam sampel, oleh karena itu perlu dilakukan *screening* untuk menentukan pelarut yang paling sesuai untuk mengekstraksi senyawa antioksidan sehingga aktifitas antioksidan maksimum untuk suatu sampel dapat diidentifikasi. Oleh karena itu pada penelitian ini digunakan dua variasi jenis pelarut yaitu air yang bersifat polar (indeks polaritas 9)

dan aseton yang bersifat semi polar (indeks polaritas 5,1) (Sadek, 2002). Ekstrak air umumnya masih keruh sehingga perlu dilakukan pemusingan menggunakan sentrifus dan diambil supernatannya. Sedangkan ekstrak aseton lebih jernih dibanding ekstrak air.

Kemampuan suatu ekstrak tanaman sebagai antioksidan dapat diwakili dengan suatu besaran TAC (*Total Antioxidant Capacity*). TAC adalah kapasitas antioksidan kumulatif yang terdapat dalam suatu sampel tanpa menunjukkan jenis senyawa aktifnya. Sehingga pada penelitian ini tidak dilakukan penjarangan dan identifikasi senyawa aktif dalam ekstrak air maupun etanol.



Gambar 1. Reaksi pembentukan kompleks Fe^{2+} -TPTZ

Penentuan TAC dilakukan dengan uji FRAP yaitu dengan mengukur perubahan absorbansi kompleks Fe^{2+} -TPTZ pada 593 nm dengan Spektrofotometer UV-Vis. Kurva kalibrasi dibuat untuk menentukan konsentrasi kompleks Fe^{2+} -TPTZ dalam sampel dengan

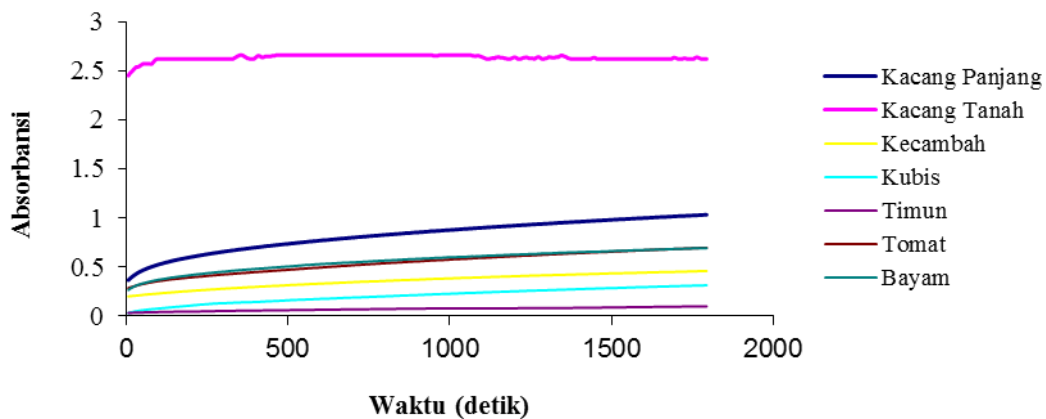
menggunakan suatu standar $FeSO_4 \cdot 7H_2O$. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh untuk kompleks Fe^{2+} -TPTZ adalah 595 nm. Ini sesuai dengan Rufino *et al.*, (2010). Gambar 1. menunjukkan reaksi pembentukan kompleks antara Fe^{2+} dan TPTZ yang berwarna biru.

Penentuan nilai TAC pada sampel dilakukan dengan mencampurkan reagen FRAP dengan ekstrak sampel. Dalam reagen FRAP terdapat campuran TPTZ, $FeCl_3$ dan buffer asetat, sehingga reagen FRAP merupakan senyawa kompleks Fe^{3+} -TPTZ yang tidak berwarna (berbeda dengan kompleks Fe^{2+} yang berwarna biru). Menurut Ou *et al.*, (2002), senyawa Fe^{3+} -TPTZ mewakili senyawa oksidator yang mungkin terdapat dalam tubuh dan dapat merusak sel-sel tubuh, sedangkan ekstrak sampel mengandung antioksidan yang kemudian dapat mereduksi senyawa Fe^{3+} -TPTZ menjadi Fe^{2+} -TPTZ sehingga senyawa Fe^{3+} -TPTZ tidak akan melakukan reaksi yang merusak sel-sel tubuh. Semakin banyak konsentrasi Fe^{3+} -TPTZ yang direduksi oleh sampel menjadi Fe^{2+} -TPTZ, maka aktifitas antioksidan dari sampel juga semakin besar.

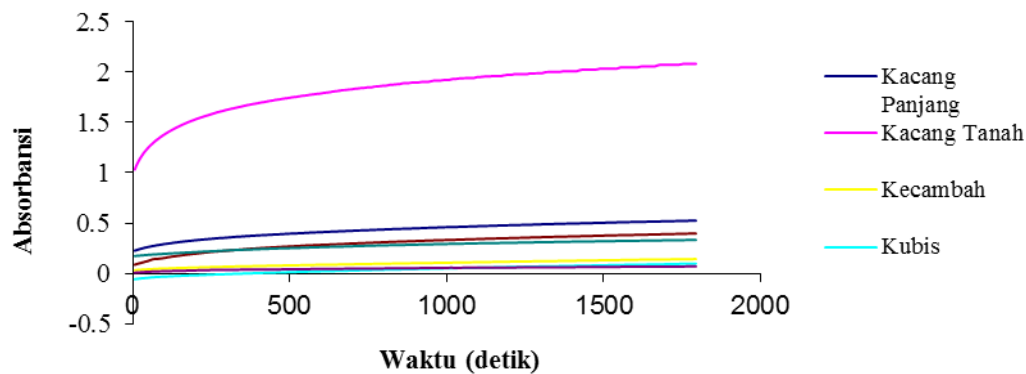
Nilai TAC masing-masing ekstrak diperoleh dengan cara mengukur perubahan absorbansi kompleks Fe^{2+} -TPTZ pada 595 nm selama 30 menit. Adapun perubahan absorbansi kompleks Fe^{2+} -TPTZ dari ekstrak air dan aseton ditunjukkan pada gambar 2 dan 3. Dari kedua gambar tersebut terlihat bahwa absorbansi

sangat tergantung dengan waktu yang ditunjukkan dari semakin meningkatnya absorbansi kompleks Fe^{2+} -TPTZ yang kemudian cenderung tetap. Semua sampel ekstrak air membutuhkan waktu 30 menit untuk mencapai

kapasitas reduksi maksimal, kecuali ekstrak air kacang tanah yang hanya membutuhkan waktu sekitar 10 menit. Data serupa juga ditunjukkan oleh ekstrak aseton.



Gambar 2. Absorbansi kompleks Fe^{2+} -TPTZ dari ekstrak air



Gambar 3. Absorbansi kompleks Fe^{2+} -TPTZ dari ekstrak aseton

Tabel 1. Nilai FRAP dan kontribusi setiap ekstrak pada nilai TAC sampel

| Sampel | Nilai FRAP (mM/mL ekstrak) | | Nilai TAC (mM/mL ekstrak) | Kontribusi pada TAC (%) | |
|----------------|-------------------------------|----------------|---------------------------------|----------------------------|----------------|
| | Ekstrak Air | Ekstrak Aseton | | Ekstrak Air | Ekstrak Aseton |
| Kacang panjang | 2,724 | 1,418 | 4,142 | 65,78 | 34,22 |
| Kacang Tanah | 6,788 | 5,407 | 12,196 | 55,66 | 44,34 |
| Kecambah | 1,256 | 0,441 | 1,697 | 74,00 | 26,00 |
| Kubis | 0,885 | 0,323 | 1,208 | 73,23 | 26,77 |
| Timun | 0,334 | 0,252 | 0,585 | 57,01 | 42,99 |
| Tomat | 1,863 | 1,090 | 2,953 | 63,10 | 36,90 |
| Bayam | 1,853 | 0,926 | 2,779 | 66,69 | 33,31 |

Data absorbansi pada menit ke-30 kemudian digunakan untuk mengukur konsentrasi kompleks Fe^{2+} -TPTZ yang terbentuk dengan menggunakan kurva kalibrasi yang dinyatakan dalam mM/mL ekstrak. Semakin tinggi nilai absorbansi menunjukkan semakin tinggi konsentrasi Fe^{3+} -TPTZ yang tereduksi menjadi Fe^{2+} -TPTZ oleh ekstrak sampel yang mengandung senyawa antioksidan.

Tabel 1. merangkum nilai FRAP dan kontribusi masing-masing ekstrak terhadap nilai TAC sampel bahan penyusun menu makanan lotek. Dari Tabel 1. terlihat bahwa urutan nilai FRAP baik pada ekstrak air maupun ekstrak aseton adalah kacang tanah > kacang panjang > tomat > bayam > kecambah > kubis > timun. Dari data tersebut dapat dilihat bahwa kacang-kacangan (kacang tanah dan kacang panjang) menunjukkan nilai FRAP yang besar dibanding sayuran lain. Ekstrak air kacang tanah selain memiliki nilai TAC paling besar juga memiliki aktifitas antioksidan yang lebih cepat yang ditunjukkan dari kemampuannya untuk mereduksi Fe^{3+} -TPTZ menjadi Fe^{2+} -TPTZ hanya dalam waktu 10 menit (Gambar 2).

Senyawa fenolik total (*Total Phenolic Content/TPC*) telah terbukti bertanggungjawab terhadap aktifitas antioksidan dari ekstrak tanaman. Semakin tinggi kandungan senyawa fenolik total maka semakin tinggi pula aktifitas antioksidannya (Tangkanakul *et al.*, 2009). Menurut Win *et al.* (2011) kandungan senyawa

fenolik terbesar dalam kacang tanah mentah adalah asam p-hidroksibenzoat.

Kaur dan Kapoor (2002) telah menguji aktifitas antioksidan beberapa sayuran asal Asia dan sekaligus menentukan senyawa fenolik totalnya. Hasil penelitian tersebut mengelompokkan sayuran menjadi tiga kelompok berdasarkan aktifitas antioksidannya yaitu tinggi, sedang dan rendah. Tomat termasuk ke dalam kelompok aktifitas antioksidan tinggi, kubis sedang dan timun rendah. Urutan ini sesuai dengan hasil penelitian ini dan juga sesuai dengan penelitian Pellegrini *et al.* (2003).

Tabel 1. juga memperlihatkan perbandingan nilai FRAP antara ekstrak air dan aseton. Secara umum, ekstrak air menunjukkan aktifitas antioksidan yang tinggi yang juga mengindikasikan tingginya kandungan senyawa fenolik. Namun demikian ekstrak aseton juga masih menunjukkan nilai FRAP yang cukup tinggi yang menunjukkan bahwa dalam residu (sisa ekstraksi dengan air) masih mengandung senyawa fenolik dengan jumlah dan aktifitas antioksidan yang cukup signifikan. Adapun kontribusi ekstrak aseton terhadap TAC masing-masing sampel berkisar antara 26,00 % pada ekstrak aseton kecambah sampai 44,34 % pada ekstrak aseton kacang tanah.

Kesimpulan

Dari data hasil penelitian, maka dapat ditarik suatu kesimpulan untuk menjawab tujuan, yaitu:

1. Nilai FRAP dari sayuran penyusun menu makanan lotek untuk ekstrak air kacang panjang, kacang tanah, kecambah, kubis, timun, tomat, dan bayam berturut-turut adalah 2,724 ; 6,788 ; 1,256 ; 0,885 ; 0,334 ; 1,863 ; 1,853 mM/mL ekstrak, sedangkan untuk ekstrak aseton kacang panjang, kacang tanah, kecambah, kubis, timun, tomat, dan bayam berturut-turut adalah 1,418 ; 5,407 ; 0,441 ; 0,323 ; 0,252 ; 1,090 ; 0,926 mM/mL ekstrak.
2. Dari ke tujuh sampel yang diuji, kacang tanah memiliki nilai TAC paling tinggi sedangkan sampel yang memiliki nilai TAC terendah adalah timun.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada DPPM UII selaku pemberi dana dan kepada Sri Lestari, Defrian dan Miftah yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

Pustaka

Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Morris, A., Baron, M., Shahidi, F., 2005, Comparison of antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, and phenolics of three native fresh and sun-dried date (Phoenix

dactylifera L.) varieties grown in Oman, *Journal Agric. Food Chem*, 53: 7592-7599

Alothman, M., Bhat, R., Karim, A.A., 2009, Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*, 115: 785-788.

Ames, B.N., Shigena, M.K., Tory M.H., 1993, Oxidant, antioxidant and the degenerative diseases of aging, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 90: 7915-7922

Anonim, Rata-rata Konsumsi Kalori (KKal) per Kapita Sehari Menurut Kelompok Makanan 1999, 2002-2013, http://bps.go.id/tab_sub/view.php?kat=1&abel=1&daftar=1&id_subyek=05¬ab=5, Diakses tanggal 25 Desember 2013

Boer, Y., 2000, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Kandis (*Garcinia parvifolia* Miq), *Jurnal Matematika dan IPA*, 1:26-33

Gey, K.F., 1990, The antioxidant hypothesis of cardiovascular disease: epidemiology and mechanisms, *Biochem. Soc. Trans.*, 18: 1041-1045

Harman, D., 1995, Role of antioxidant nutrient in aging: overview, *Age*, 18: 51-62

Ou, B., Huang, D., Woodill, M.H., Flanagan, J.A., Deemer, E.K., 2002, Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP): a comparative study, *J. Agric. Food. Chem*, 50: 3122-3128

Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F., 2003, Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three

- different in vitro, *J. Nutr.* **133**:2812-2819
- Reis, S.F., Rai, D.K., Ghannam, N.A., Water at room temperature as a solvent for the extraction of apple pomace phenolic compounds, *Food Chemistry*, **135**: 1991-1998
- Rufino, M.S.M., Alves, R.E., de Brito, E.S., Jimenez, J.P., Calixto, F.S., and filho, J.M., 2010, Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil, *Food Chemistry*, **121**: 996-1002
- Sadek, P., 2002, *The HPLC Solvent Guide*, Wiley-Interscience
- Salah, N., Miller, N.J., Paganga, G., Tijburg, L., Bolwell, G.P., Rice-Evans, C., 1995, Polyphenolic flavonols as scavenger of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidant, *Arch.Biochem.Biophys*, **322**: 339-346
- Shian, T.E., Abdullah, A., Musa, K.H., Maskat, M.Y., ghani, M.A., 2012, Antioxidant properties of three banana cultivars (Musa acuminata 'Berangan', 'Mas', 'Raja') extracts, *Sains Malaysiana*, **41**: 319-324
- Smith, M.A., Rottkamp, C.A., Nunomura, A., Raina, A.K., Perry, G., 2000, Oxidative stress in alzheimer's disease, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1502**: 139-144
- Tangkanakul, P., Auttaviboonkul, P., Niyomwit, B., Lowvitoon, N., Charoenthamawat, P., Trakoontivakorn, G., 2009, Antioxidant capacity, total phenolic content and nutritional composition of Asian foods after thermal processing, *International Food Research Journal*, **16**:571-580
- Win, M.M., Hamid, A.A., Baharin, B.S., Anwar, F., Sabu, M.C., Pak-Dek, M.S., 2011, Phenolic compounds and antioxidant activity of peanuts skin, hull, raw kernel, and roasted kernel flour, *Pak. J. Bot.*, **43**: 1635-1642
- Yeum, K.J., Aldini, G., Chung, H.Y., Krinsky, N.I., Russell, R.M., 2003, The activities of antioxidant nutrient in human plasma depend on the localization of attacking radical species, *Journal of Nutrition*, **133**: 2688-2691