

UJI TOKSISITAS VITAMATA PROTOTYPE II METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST MENGGUNAKAN *Artemia salina* Leach.

TOXICITY TEST OF VITAMATA PROTOTYPE II WITH *Artemia salina* BRINE SHRIMP LETHALITY TEST METHOD

Bohari Yusuf¹⁾, Fenny Dian Lestari¹⁾ dan Anton Rahmadi²⁾

¹⁾Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman

²⁾Jurusan Teknologi Hasil Pangan, Fakultas Pertanian Universitas Mulawarman

Corresponding Author: lestarifennydian@gmail.com

Principal Investigator: arahmadi@unmul.ac.id

ABSTRAK

VitaMata prototipe II merupakan produk suplemen minuman emulsi dari hasil kombinasi Fraksi Olein Minyak Sawit Merah (FO-MSM), sari labu kuning yang kaya akan kandungan karotenoid, dan buah naga sebagai penyamar rasa. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan karotenoid dan nilai LC_{50} dari VitaMata prototipe II terhadap variasi penambahan karbon aktif 0%, 2% dan 4% (b/v) dalam proses *bleaching* FO-MSM. Penentuan karotenoid dilakukan dengan metode spektrofotometri, sedangkan penentuan nilai LC_{50} dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) *Artemia salina*. Kontrol FO-MSM tanpa penambahan karbon aktif (0%) memiliki kadar karotenoid sebesar 690,4 ppm dan produk VitaMata yang dihasilkan memiliki LC_{50} sebesar 210,9 ppm. Penambahan karbon aktif 2 dan 4% menurunkan kadar karotenoid FO-MSM menjadi 55,5 dan 49,9% dibandingkan dengan kontrol FO-MSM. Produk akhir VitaMata yang menggunakan FO-MSM dengan penambahan karbon aktif 2 dan 4% memiliki LC_{50} sebesar 149,7760 dan 69,9304 ppm. Penggunaan karbon aktif menurunkan kadar karotenoid FO-MSM sekitar 50%, dan berdampak pada kenaikan toksisitas produk. Penelitian ini akan dilanjutkan dengan konfirmasi toksisitas dengan hewan uji tikus.

Kata kunci: *Brine Shrimp Lethality Test*, karotenoid, LC_{50} , uji toksisitas, VitaMata.

ABSTRACT

*VitaMata prototype II is an emulsion beverage supplement product from the combination of Olein Palm Oil Fraction (FO-MSM) and pumpkin juice rich in carotenoid content, and dragon fruit as a flavor mask. The aim of this research is to know the carotenoid content and LC_{50} value from VitaMata prototype II to the variation of activated carbon at 2% and 4% (w/v) in the bleaching process of FO-MSM. Carotenoid determination was completed by spectrophotometric method, while the determination of LC_{50} value was accomplished by Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) of *Artemia salina*. The FO-MSM control without the addition of activated carbon (0%) had carotenoid levels of 690.4 ppm and the resulting VitaMata product had LC_{50} of 210.9 ppm. The addition of activated carbon at 2 and 4% decreased carotenoid content of FO-MSM to 55,5 and 49,9% compared to FO-MSM control. VitaMata end products using FO-MSM with 2 and 4% of active carbon addition had LC_{50} of 149.7760 and 69.9304 ppm, respectively. The use of activated carbon lower the carotenoid content of FO-MSM about 50%, and impact on increasing product toxicity. This study will continue with a toxicity confirmation rats test.*

Keywords: *Brine Shrimp Lethality Test*, carotenoid, LC_{50} , toxicity test, VitaMata.

PENDAHULUAN

Pemanfaatan produk lokal merupakan upaya memberdayakan potensi ekonomi setempat, sekaligus mengurangi ketergantungan impor bahan pangan fungsional. Semangat ini menjadi pemicu diformulasikannya VitaMata prototipe II yang merupakan produk suplemen minuman emulsi dari hasil kombinasi Fraksi Olein Minyak Sawit Merah (FO-MSM) dan sari labu kuning, dan buah naga.

Kalimantan merupakan salah satu wilayah penghasil sawit terbesar di Indonesia, dimana kelapa sawit tersebut dijadikan sebagai bahan baku minyak goreng yang diperuntukkan untuk konsumsi masyarakat. Minyak sawit yang diproduksi melalui tahap-tahap cukup panjang. Salah satunya yaitu pembentukan minyak sawit kasar atau CPO (Crude Palm Oil). CPO mengandung beberapa kandungan yaitu olein (cair) dan stearin (padat).

Minyak mentah kelapa sawit atau yang biasa dikenal sebagai *Crude Palm Oil* (CPO), merupakan minyak makan nabati yang diperoleh dari mesokarp (sabut) buah pohon kelapa sawit (Ayeleso, 2012). Keunggulan utama minyak sawit adalah kandungan mikro nutriennya yang tinggi terutama β -karoten. Tingginya kandungan β -karoten tersebut menyebabkan minyak sawit berwarna kemerahan sehingga sering disebut minyak sawit merah atau disebut dengan *red palm oil* (RPO) (Ayustaningwarno, 2012). Dari kandungan minyak sawit tersebut dapat dipisahkan antara stearin dan olein. Dimana umumnya yang diambil adalah olein yang biasa disebut minyak sawit merah.

Minyak Sawit Merah (MSM) adalah minyak sawit yang diperoleh tanpa melalui proses pemucatan dengan tujuan mempertahankan kadar karotenoid yang terkandung di dalamnya (Najamuddin dkk, 2012). β -karoten pada minyak sawit merah merupakan provitamin A yang berada pada kondisi larut dalam minyak dan memiliki bioavailabilitas yang lebih baik daripada β -karoten dalam bentuk kristal atau ikatan protein kompleks (Budiyanto dkk, 2010).

Labu kuning merupakan jenis sayuran buah yang memiliki daya awet tinggi dan sumber vitamin A karena kaya karoten, selain zat-zat gizi lainnya seperti karbohidrat, protein, mineral dan vitamin. Kandungan karoten pada buah labu kuning sangat tinggi yaitu sebesar 180,00 SI (Lestari, 2011). Selain itu Labu kuning merupakan sumber karotenoid, pektin, garam mineral, vitamin dan zatbioaktif lainnya, seperti senyawa fenolik (Cerniauskiene *et al.*, 2014).

Buah naga mengandung senyawa kimia vitamin C, vitamin E, vitamin A, flavonoid dan senyawa polifenol yang dapat berfungsi sebagai antioksidan dalam menangkap radikal bebas (Rahmawati & Mahajoeno, 2010). Buah naga merah memiliki betalains yang mengandung fenolik dan struktur non-fenolik yang bertanggung jawab untuk kapasitas antioksidan utama *Hylocereus* ungu, sedangkan fenolik non-betalainik menyumbang komponen antioksidan yang terbatas yaitu $7,21 \pm 0,02$ mg CE/100 gram (Nurliyana dkk.,2010).

Bahan baku minyak sawit merah, labu kuning dan buah naga dapat dijadikan suatu produk yang bermanfaat yaitu produk emulsi Pro Vitamin A yang dinamakan VitaMata Prototipe II. Produk VitaMata prototipe II merupakan lanjutan dari VitaMata prototipe I yang ditemukan oleh Rahmadi, dkk (2014) akan tetapi VitaMata prototipe I memiliki kekurangan yaitu aroma dan rasa dari minyak sawit merahnya masih terasa. Sehingga perlu dilakukan pengembangan penelitian lebih lanjut dari VitaMata Prototipe I yang akan menghasilkan VitaMata prototipe II. VitaMata prototipe II diformulasikan antara minyak sawit merah, labu kuning dan buah naga merah berdasarkan formulasi tertentu dengan penambahan bahan pangan seperti frambozen, CMC, kayu manis, fruktosa, xhantan gum yang berfungsi sebagai emulsifier dan stabilizer sehingga menghasilkan produk yang mudah untuk dikonsumsi dan dicerna dalam tubuh.

Produk VitaMata Prototipe II yang dihasilkan, melalui beberapa tahap yakni pengujian *Free Fatty Acid* (FFA) CPO, pemisahan fraksi olein dari CPO, deodorisasi Fraksi Olein Minyak Sawit Merah (FO-MSM), kemudian tahap pembuatan produk. Produk yang dihasilkan dapat dibuktikan kelayakannya untuk konsumsi melalui uji-uji, seperti uji derajat keasaman, uji kadar karotenoid, uji kadar vitamin C, uji aktivitas antioksidan hingga uji toksisitas dari produk tersebut. Diharapkan, berdasarkan data yang dihasilkan dapat dijadikan acuan untuk parameter dosis yang tepat untuk mengkonsumsi produk yang dihasilkan.

Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi

pemaparan pada manusia, sehingga dapat ditentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia (Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7. 2014).

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode untuk menguji bahan-bahan yang bersifat toksik (Harmita dan Radji, 2008) dengan menggunakan larva udang (*Artemia salina* L) sebab memiliki membran kulit yang sangat tipis, sehingga memungkinkan terjadinya difusi zat dari lingkungan yang mempengaruhi metabolisme dalam tubuhnya selain itu memiliki pori-pori yang besar sehingga dapat menyerap toksik lebih banyak (Ansel, 1989).

Menurut Meyer dkk (1982), toksisitas ditentukan dengan melihat LC_{50} -nya lebih kecil atau sama dengan $1000\mu\text{g/mL}$ ($LC_{50} \leq 1000\mu\text{g/mL}$). Terdapat tiga tingkatan toksisitas yaitu pada $LC_{50} > 1000$ ppm dikatakan tidak toksik, pada $31 \text{ ppm} \leq LC_{50} \leq 1000$ ppm bersifat Toksik dan $LC_{50} < 30$ ppm maka ekstrak dikatakan sangat toksik.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar karotenoid dan kadar toksisitas dari produk VitaMata prototipe II yang kaya akan β -karoten. VitaMata prototipe II berbahan dasar Fraksi Olein Minyak Sawit Merah (FO-MSM), buah naga merah dan labu kuning. Dengan variasi konsentrasi karbon aktif FO-MSM yaitu 2 dan 4% dan tanpa karbon aktif yaitu 0%. Untuk mendapatkan kadar karotenoid pada VitaMata menggunakan metode PORIM. Sedangkan untuk mendapatkan kadar toksisitas menggunakan metode BSLT.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah CPO (*Crude Palm Oil*) buah labu, kuning dan buah naga merah. Bahan lain yang digunakan ialah air layak konsumsi, xhantan gum, sirup fruktosa, asam sitrat, perisa frambozen, bubuk kayu manis, CMC. Kemudian, bahan-bahan yang digunakan untuk analisa yaitu n-heksan, indikator fenolptalein, KOH, aquades, NaOH, alkohol, bibit *Artemia salina*, air laut, Dimetil sulfoxide (DMSO).

Alat yang digunakan *rotary evaporator*, buret, neraca analitik, blender, *hot plate*, pipet mikro, plat BSLT, lampu penghangat, dan spektrofotometer UV-Vis.

Prosedur Penelitian

Penentuan kadar FFA

Sebanyak 10 gr CPO dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL. Lalu, dilarutkan dengan 25 mL aquades panas. Selanjutnya, sampel disaring dan diambil filtratnya. Ditambahkan 2 tetes indikator fenolptalein ke dalam filtrat tersebut. Kemudian, dititrasi dengan KOH-Alkoholis 0,1 N yang telah distandarisasi hingga terjadi perubahan warna menjadi merah lembayung (Ketaren, 2008).

Pembuatan FO-MSM (Fraksi Olein CPO Minyak Sawit Merah) (Rahmadi dkk., 2014)

CPO sebanyak 300 mL terlebih dahulu dihitung kadar FFA-nya (*Free Fatty Acid*) atau asam lemak bebasnya. Proses netralisasi asam lemak bebas dan penghilangan gum dilakukan dengan penambahan air hangat (80-90°C) sebanyak 100 mL, dilakukan pengocokan selama 1 menit dalam corong pisah, dan pembuangan air sisa, kemudian ditambahkan soda kustik (NaOH) 10% sebanyak 400 μL . Selanjutnya dilakukan pembilasan menggunakan air hangat sebanyak 50 mL secara berulang dan di cek menggunakan kertas lakmus untuk mengetahui gum dan Na-FFA atau sabun terbuang sempurna. Kadar FFA CPO yang digunakan harus berada dibawah 4% untuk kriteria standar CPO segar. CPO kemudian didiamkan selama 1 malam dan diperoleh fraksi oleinnya dengan *yield* berkisar 60-70%. Fraksi cair (olein) kemudian di deodorasi tanpa *bleaching* (0%) dan *bleaching* menggunakan karbon aktif yang telah digerus (2%, dan 4%) melalui rotavapor dengan pengaturan suhu 100°C,

kecepatan 60 RPM, tekanan 80-90 mmHg, selama 5 jam. Fraksi olein CPO yang telah diperoleh kemudian disimpan dalam wadah tertutup (botol) dalam lemari es untuk proses selanjutnya.

Pembuatan Sari Buah Naga Merah dan labu kuning (Rahmadi dkk., 2014)

Buah naga merah sebanyak 2 kg dan labu kuning 1 kg dikupas dan diambil daging buahnya, kemudian dipotong dengan ukuran 3-5 cm³ lalu dicuci bersih dengan menggunakan air bersih yang mengalir. Selanjutnya potongan buah naga merah dan labu kuning tersebut dihaluskan menggunakan blender. Setelah itu, sari buah naga merah dan labu kuning, masing-masing dimasukkan dalam botol kaca dan dipasteurisasi dengan suhu 80°C selama 10 menit. Kemudian disaring menggunakan kain saring bersih. Sari buah naga merah dan labu kuning hasil penyaringan selanjutnya ditempatkan dalam lemari pendingin untuk proses berikutnya.

Pembuatan Produk Emulsi

Fraksi olein CPO sebanyak 30 mL ditambahkan pada 70 mL sari labu kuning, sehingga volume campuran menjadi 100 mL, kemudian ditambahkan CMC 2% (b/b), xantan gum 2% (b/b), bubuk kayu manis 0.5% (b/b) dan dihomogenkan. Setelah itu, sampel produk ditambahkan 225 mL sari buah naga merah dan air hangat dengan suhu 80-90°C hingga volume 400 mL dengan berbagai perlakuan, kemudian ditambahkan pemanis sirup fruktosa 10% (v/v) dan bahan pengawet asam sitrat 0,25% (b/b) dan perisa frambozen 10% (v/v). Selanjutnya, campuran dihomogenkan dengan blender pada kecepatan rendah selama 3 menit. Setelah dihomogenkan, sampel disaring dan ditempatkan dalam kemasan botol kaca gelap berukuran 100 mL. Botol berisi produk emulsi kemudian dipasteurisasi pada suhu 70°C selama 15 menit. Produk emulsi yang telah di pasteurisasi digunakan untuk analisa β-karoten dan uji toksisitas dengan *Arthemiasalina* L.

Uji toksisitas Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Penetasan telur *Arthemiasalina* dilakukan dalam sebuah kolom selama 24-48 jam. Larva yang dapat menembus daerah terang setelah 24 jam siap digunakan untuk uji toksisitas. Lalu, disiapkan larutan induk VitaMata 0%, 2% dan 4%. Masing-masing sampel ditimbang sebanyak 1 mg dalam botol vial, lalu dilarutkan dalam 100µL DMSO dan 900µL air laut, sehingga sampel memiliki konsentrasi 1000 ppm. Lalu, masing-masing sampel diencerkan menjadi konsentrasi, 500, 250, 125, 62,5, 31,5, 15,6 dan 7,8 ppm. Pada masing-masing kolom plat dimasukkan *Athemiasalina* sebanyak 8-12 dalam 100 µL air laut dan dilakukan secara triplo. Jumlah larva udang yang merespon dihitung setelah 24 jam. Nilai LC₅₀ (*Lethaly consentration* kematian 50%) larva *Arthemiasalina* L ditentukan dengan menggunakan Analisis Probit SAS (*Statistic Analysis System*). Nilai LC₅₀ dari masing-masing sampel akan menunjukkan toksisitas dan bioaktivitas dari setiap sampel (Nurhayati, 2006).

Pengukuran kadar karotenoid Metode PORIM

Sampel ditimbang sebesar 0.1 g ke dalam labu takar 25 mL, lalu ditambahkan dengan n-heksan hingga tanda tera. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 446 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

Kadarkarotenoid diperoleh berdasarkan rumus pada Persamaan:

$$\text{Karoten (ppm)} = \frac{25 \times 383 \times (As - Ab)}{100 \times W}$$

Keterangan :

W : Berat sampel (g)

As : Absorbansi sampel

Ab : Absorbansi blanko (PORIM, 1995).

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

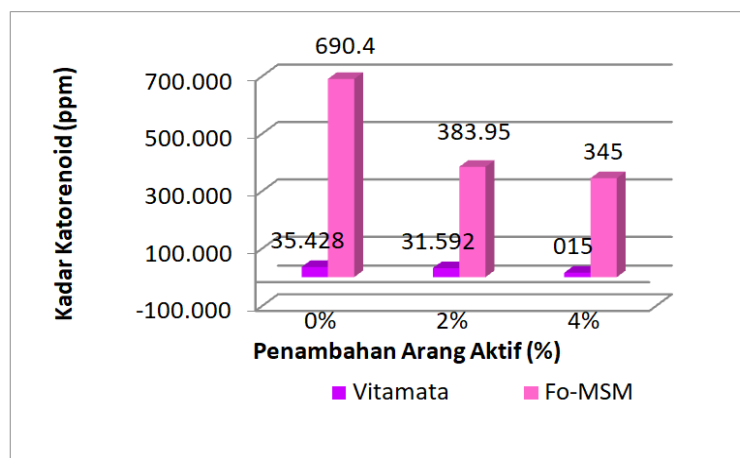
Pembuatan FO-MSM (Fraksi Olein Minyak Sawit Merah)

Kadar FFA CPO diperoleh sebesar 3,17%, sehingga dapat digunakan untuk tahap selanjutnya. Lalu CPO tersebut diekstraksi dengan air hangat (80-90°C) dan ditambahkan NaOH 10%. Salah satu tahapan dalam pemurnian minyak sawit secara kimia adalah deasidifikasi atau netralisasi. Deasidifikasi dilakukan setelah tahap *degumming* (penghilangan gum) untuk memisahkan asam lemak bebas yang terbentuk oleh aktivitas enzim, mikroba, uap air dan oksigen pada pasca panen sawit. Deasidifikasi dilakukan dengan menggunakan alkali, yang merupakan metode yang paling umum dilakukan karena lebih murah dan efisien dalam mereduksi asam lemak bebas pada minyak mentah atau kasar sampai kadar tertentu yang diinginkan (Wirdata dkk, 2012). CPO diekstraksi secara berulang-ulang dengan air hangat, hingga diperoleh fraksi olein yang berwarna merah pada fase atas.

Pembuatan emulsi

Pada pembuatan produk emulsi dibutuhkan emulsifier dan stabilizer untuk pembentukan emulsi yang stabil (Rahmadi dkk., 2014). Emulsifier yang digunakan dalam penelitian ini adalah xhantan gum yang berfungsi menjaga tegangan permukaan droplet lemak didalam minyak agar tetap dalam kondisi stabil dan tidak terpisah, sedangkan stabilizer yang digunakan adalah CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) dan digunakan bahan lain yang ditambahkan untuk produk VitaMata adalah bubuk kayu manis, sirup fruktosa/HFS (*High Fructose Syrup*) digunakan untuk memberi rasa manis, asam sitrat digunakan sebagai bahan pengawet dan pengatur keasaman dan juga perisa *orange* digunakan untuk menyembunyikan rasa dan aroma khas minyak sawit (Rahmadi dkk., 2014).

Kadar β -karoten Fraksi Olein Minyak Sawit Merah (FO-MSM) dan VitaMata



Gambar 1. Hasil analisa karotenoid VitaMata dan FO-MSM dengan variasi tanpa karbon aktif 0%, dengan karbon aktif 2% dan 4%

Hasil analisa kadar VitaMata dan kadar FO-MSM dengan variasi tanpa penambahan karbon aktif (0%) sebagai kontrol, penambahan karbon aktif 2 dan 4% dapat dilihat pada gambar 1. Berdasarkan analisa data yang diperoleh penambahan karbon aktif mempengaruhi karotenoid, yaitu semakin banyak karbon aktif yang digunakan maka akan semakin menurun kadar karotenoid yang terkandung dalam sampel hal ini dapat dilihat pada gambar 1. VitaMata mula-mula (0%) sebesar 35,4275 ppm. Penggunaan karbon aktif 2 dan 4%

menyebabkan kadar karotenoid menurun menjadi 43,24% dan 89,16%. Hal ini pun demikian pada kadar betakaroten FO-MSM mengalami penurunan yaitu sebesar pada FO-MSM 0% sebesar 690,4 ppm sedangkan pada penambahan karbon aktif 2 dan 4% menjadi 49,9 dan 55,5%.

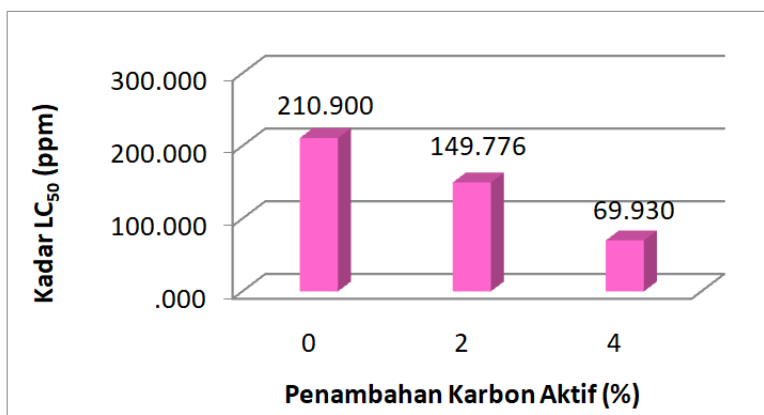
Semakin banyak karbon aktif yang digunakan maka akan semakin menurunkan kadar karotenoid yang terkandung dalam sampel. Hal lain yang menyebabkan menurunnya karotenoid pada FO-MSM yaitu adanya proses deodorisasi dan *bleaching*.

Deodorisasi dilakukan dengan pemanasan pada suhu 100°C, kecepatan 60 RPM, tekanan 80-90 mmHg, selama 5 jam untuk menghilangkan bau dari minyak. Proses *bleaching* dengan karbon aktif juga efektif menurunkan aroma pada FO-MSM (data tidak ditampilkan), namun berisiko menyebabkan kandungan karoten minyak sebagai sumber komponen antioksidan terbesar minyak sawit (Siburian dkk, 2014).

Kadar betakaroten VitaMata prototype II mengalami penurunan yang drastis dibandingkan dengan kadar karotenoid FO-MSM. Hal ini disebabkan adanya penambahan bahan baku lainnya seperti ekstrak buah naga merah dan zat adiktif (perisa *orange*) yang mungkin mempengaruhi sensitifitas uji PORIM.

Uji toksisitas MetodeBSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Uji toksisitas merupakan uji pendahuluan untuk mengamati aktivitas farmakologi suatu senyawa (Sari,2013). Kadar LC₅₀ yang diperoleh dari probit SAS (*Statistic Analysis System*). Nilai ini menunjukkan bahwa sampel tersebut mampu membunuh larva udang hingga 50% populasi. Pada perlakuan kontrol atau tanpa penambahan karbon aktif, LC₅₀ terhadap *A. salina* adalah sebesar 210,90 ppm. Nilai LC₅₀ ini lebih besar daripada pada perlakuan penambahan arang aktif sebesar 2 dan 4% yaitu 149,78 dan 69,93 ppm.



Gambar 2. Nilai LC₅₀ VitaMata pada kadar 0%, 2% dan 4%

Nilai LC₅₀ yang diperoleh menyatakan bahwa penambahan karbon aktif mempengaruhi adanya nilai LC₅₀, semakin banyak konsentrasi karbon aktif yang diberikan maka LC₅₀ diperoleh semakin rendah, sehingga bersifat toksik. Prinsip uji toksisitas ialah komponen bioaktif selalu bersifat toksik jika diberikan dalam dosis tinggi, sebaliknya obat adalah racun dari suatu bahan bioaktif dosis rendah (Sari,2013). Penggunaan DMSO diduga menurunkan LC₅₀ terhadap *A. salina*, sehingga perlu dilakukan analisis ulang tanpa menggunakan DMSO

sebagai pelarut. Selanjutnya, analisa ini perlu dikonfirmasi dengan uji toksisitas lanjut pada hewan uji tikus untuk melihat nilai LC₅₀ VitaMata terhadap hewan.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan karbon aktif mempengaruhi kadar karotenoid dalam sampel FO-MSM dan VitaMata, serta mempengaruhi nilai LC₅₀ yang diperoleh. Semakin banyak karbon aktif yang digunakan maka kadar karotenoid semakin turun dan nilai LC₅₀ juga semakin rendah. Sampel FO-MSM dan VitaMata 0% memiliki kadar karotenoid yang tinggi dibandingkan dengan penambahan karbon aktif 2 dan 4% yaitu sebanyak 690,4 dan 35,43 ppm. Pada sampel VitaMata 4% memiliki nilai LC₅₀ yang paling rendah yaitu sebanyak 69,93 ppm menandakan adanya kemungkinan senyawa bioaktif dalam sampel VitaMata 4% tersebut. Uji toksisitas lanjutan dengan tikus perlu dilakukan untuk mengonfirmasi hasil ini.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Kemristekdikti atas pendanaan penelitian ini melalui Hibah PUPT tahun anggaran 2017 a.n. Dosen Pembimbing: Anton Rahmadi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansel, C. H. (1989). Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi Keempat. Jakarta: UI-Press.
- Ayeleso, A.O., Oguntibeju, O.O., and Brooks, NL. (2012). Effects of Dietary Intake of Red Palm Oil on Fatty Acid Composition and Lipid Profiles in Male Ristar Rats. *African Journal of Biotechnology*. 11(33): 8275-8279.
- Ayustaningwarno, F. (2012). Proses Pengolahan dan Aplikasi Minyak Sawit Merah Pada Industri Pangan. *Vitasphere*. 2: 1-11.
- Badan Pengawas Obat Dan Makanan. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7. (2014). Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis Secara In Vivo. Jakarta.
- Budiyanto dkk. (2010). Perubahan Kandungan β -Karoten, Asam Lemak Bebas dan Bilangan Peroksida Minyak Sawit Merah Selama Pemanasan. *Agritech*. Vol 30, No. 2. Bengkulu.
- Cerniauskiene, et.al. (2014). Pumpkin fruit flour as a source for food enrichment in dietary fiber. *Not Bot Horti Agrobo*. 42(1):19-23.
- Ketaren, S. 2008. Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Lestari, A. R. (2011). Efektifitas Gliserol Monostearat (GMS) Terhadap Mutu Donat Labu Kuning. Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jawa Timur. Surabaya.

- Meyer., Laughlin and Ferngni. (1982). Brine Shrimp. Convenient general bioassay for active constituents. *Planta Medica*. 45, 3-4.
- Najamuddin dkk, (2012). Pemanfaatan minyak sawit merah dalam pembuatan biskuit Kaya beta karoten. *Media Gizi Masyarakat Indonesia*. 1(2) :117-121.
- Nurhayati, A. P. D. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak *Euheuma Alvarezii* terhadap *Arthemisia salina* Sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker. *Akta Kimindo Volume 2*.
- Nurliyana, R., et.al(2010). Antioxidant study of pulp and peel dragon fruits: a comparative study. *International Food Research Journal*. 17: 365-375.
- PORIM. 1995. *PORIM Test Methods*. Palm Oil Research Institute of Malaysia, Kuala Lumpur.
- Rahmadi, A., Agustin, S., dan Rohmah, M. (2014). Produk Olahan Emulsi Labu dan Minyak Sawit Untuk Intervensi Balita Kurang Vitamin A di Kalimantan Timur. Laporan Hasil Penelitian Terapan Unggulan Strategis Pemerintah Provinsi Kalimantan Timur, Universitas Mulawarman, Samarinda.
- Rahmawati, B. dan Mahajoeno, E. (2010). Variasi morfologi, isozim dan kandungan vitamin C pada varietas buah naga. *Nusantara Bioscience*. 1, 131-137.
- Sari, D. F. (2013). Uji B dan Penentuan Aktifitas Antioksidan Dengan Metode DPPH Dari Metabolit Sekunder Fraksi n-Heksan, Etil Asetat dan Metanol-Air Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* [Linn.] Pr.). UNMUL FMIPA Kimia, Samarinda.
- Siburian, A. M., Agnes Sartika Doharma Pardede, Setiaty Pandia. 2014. Pemanfaatan Adsorben Dari Biji Asam Jawa untuk Menurunkan Bilangan Peroksida Pada Cpo (Crude Palm Oil). *Jurnal Teknik KimiaUSU*. 3, 4
- Widarta, I.W., Andarwulan, R.N., dan Haryati, T. 2012. Optimasi Proses Deadisifikasi dalam Pemurnian Minyak Sawit Merah Skala Pilot Plant. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 23(1): 23-36