

a. Instrumen penelitian

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini meliputi:

- 1) Timbangan berat badan digital merk GEA dengan ketelitian 0,1 kg.
- 2) Alat pengukur tinggi badan (*microtoise*) merk GEA dengan ketelitian 0,1 cm.
- 3) Formulir Penjelasan Sebelum Persetujuan (PSP)
- 4) Formulir skrining subjek penelitian
- 5) Formulir food recall 24 jam untuk mengetahui gambaran kebiasaan makan subjek sebelum dan selama penelitian
- 6) Formulir *Food Frequency Questionnaire-Semi Quantitative* (FFQ-SQ) untuk menilai kebiasaan mengkonsumsi buah-buahan selama sebulan terakhir.
- 7) Spuit, tourniquet, kapas alkohol, dan tabung EDTA untuk pengambilan sampel darah.
- 8) Tabung reaksi, kuvet, sentrifugator, dan spektrofotometer untuk pemeriksaan KAT dan kadar MDA.
- 9) Timbangan bahan makanan untuk menimbang buah dengan ketelitian 1 gram.

b. Cara kerja pengukuran variabel pada sampel darah

Sampel darah disentrifugase pada 3000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan serum darah. Serum dibagi menjadi 2 untuk pemeriksaan kapasitas antioksidan total dan kadar malondealdehid.

- 1) Kapasitas antioksidan total (KAT)
 - a) 200 μ L serum dicampur dengan 200 μ L asetonitril dengan konsentrasi 9.50 mol/L pada aquades. Inkubasi selama 2 menit pada suhu ruang (20°C) kemudian disentrugase selama 30 menit pada (4°C, 4600 rpm, Hettich zentrifugen D-78532 Tuttlingen, Germany).
 - b) Siapkan larutan DPPH dengan konsentrasi 10 mmol/L methanol
 - c) Masukkan 5 μ L DPPH ke dalam kuvet. Tambahkan 970 μ L of mix methanol.
 - d) 25 μ L serum yang telah terdeproteinasi dilarutkan dalam radikal DPPH untuk mengukur berapa persentase DPPH yang mampu dinetralisir.
 - e) Inkubasi selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya pada 517 nm (A_{517}) di suhu ruang menggunakan ThermoSpectronic, USA (A_{517} serum).
 - f) Larutkan sampel yang sama (25 μ L serum) ke dalam 25 μ L asetonitril 9,50 mol/L, ukur absorbansinya sebagai kontrol negatif (A_{517} kontrol negatif).

g) Hitung persentase hambatan radikal DPPH menggunakan rumus $(1 - A_{517} \text{ serum} / A_{517} \text{ kontrol negatif}) \times 100\%$ (Chrzczanowicz *et al.*, 2008).

2) Malondealdehid (MDA)

- a) Siapkan larutan reagen dengan komposisi 15% trichloroacetic acid (TCA); 0,375 thiobarbituric acid (TBA); 0,25 N hydrochloric acid (HCl)
- b) 0,5 ml serum dicampur dengan 1 ml (TBA-TCA-HCl), masukkan ke dalam tabung reaksi
- c) Tutup tabung reaksi menggunakan kapas, inkubasi selama 15 menit pada air mendidih
- d) Setelah dingin, sentrifus pada 1000 rpm selama 10 menit
- e) Ukur absorbansinya pada 535 nm (A_{535}) (Buege *and* Aust, 1978).
- f) Kalkulasi panjang gelombang absorbansi menggunakan koefisien $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, sehingga didapatkan rumus kadar MDA = $(A_{535} / 1,56) \times 10^5$.