

EFEK ANTIFOTOKSIDATIF EKSTRAK ANDALIMAN (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.)
TERHADAP ASAM LINOLEAT

ANTI-PHOTOOXIDATIVE EFFECT OF ANDALIMAN (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.)
EXTRACT ON LINOLEIC ACID

Edi Suryanto¹, Sri Raharjo², Hardjono Sastrohamidjojo³, and Tranggono²

ABSTRACT

Andaliman fruit is a seasoning commonly used in traditional food preparation in North Sumatera. It is also well known as a folk medicine source to cure several kind of illness. The objectives of this study were to determine effect of andaliman extract in photooxidation reaction in model systems. Andaliman was extracted sequentially with hexane, acetone and ethanol. The photooxidation reaction system was consisted of linoleic acid (0,03 M) in methanol containing 100 ppm erythrosine as a sensitizer and the reaction mixture was exposed under 4000 lux fluorescent light for up to 5 hours

Ethanol extract (EHSAE) was found to have the highest anti-photooxidative effect, followed by those of acetone extract (ESHA) and hexane extract (EH), respectively. Linoleic acid treated with ESHA at 500 ppm concentration and 500 ppm \pm -tocopherol showed lower peroxide value compare to the control samples at 5 hours light exposure in room temperature. However, ESHA showed any difference in its anti-photooxidative effect than that of \pm -tocopherol as a positive control ($p < 0.05$). The study on the extracting solvent effects indicated that the antiphotooxidative components in the fruit andaliman possess strong polar property and easily extracted with polar solvent. The addition of ethanol extract (ESHA) showed less bleaching ability of erythrosine, followed by acetone extract (ESHA) and hexane extract (HE).

These results suggest that the ethanolic extract of andaliman contains components having antiphotooxidative activity.

Key words : *photooxidation, antiphotooxidative, andaliman fruit, erythrosine*

PENDAHULUAN

Asam lemak tak jenuh, asam amino, protein, vitamin C dan D, kolesterol dan limonen yang terdapat dalam berbagai bahan pangan sangat peka terhadap fotooksidasi selama penyimpanan di bawah cahaya, terutama hadirnya fotosensitizer seperti riboflavin, mioglobin dan klorofil.

Fotooksidasi dapat terjadi melalui reaksi tipe I dan II. Reaksi fotosensitasi tipe I melibatkan pembentukan anion superoksida dan radikal-radikal lain yang disebabkan transfer atom hidrogen atau elektron-elektron melalui interaksi sensitiser triplet dengan molekular atau komponen-komponen lainnya. Proses tipe II melibatkan generasi oksigen singlet melalui transfer energi dari sensitiser triplet tereksitasi kepada oksigen triplet. Proses fotokimia dalam sistem bahan makanan adalah bergantung pada tipe dan konsentrasi sensitiser dan substrat dalam sistem tersebut.

Bahan pangan terdapat beberapa zat yang dapat berperan sebagai sensitiser seperti riboflavin, derivat, mioglobin, klorofil, eritrosin, ros bengal dan pigmen lainnya. Sensitiser ini berfungsi mengubah energi cahaya menjadi energi kimia yang selanjutnya memulai reaksi oksidasi. Oksidasi oleh oksigen singlet ini dapat terjadi bahkan pada suhu rendah sekalipun, karena energi aktivasinya memang rendah (Whang dan Peng, 1988a; Yang, *et al.*, 2002). Rawls dan Van Santen (1970) melaporkan bahwa partisipasi oksigen singlet dalam tahap inisiasi oksidasi minyak dan laju reaksi oksigen singlet dengan asam linoleat sekitar 1450 kali lebih besar daripada oksigen triplet. Oleh karena itu, bahan pangan yang mengandung sensitiser lebih mudah mengalami kerusakan pada kondisi disinari cahaya.

Salah satu cara untuk menghambat terjadinya oksidasi sering digunakan antioksidan sintetis seperti BHA dan BHT. Antioksidan tersebut ternyata hanya bisa menghambat ootooksidasi, tetapi tidak efektif menghambat reaksi fotooksidasi (Carlsson, 1976; Frankel, 1984; Korycka-Dahl dan Richardson, 1987; Yasaei *et al.*, 1996). Selain itu penggunaan antioksidan sintetis cenderung dihindari oleh konsumen, karena alasan kesehatan dan hasilnya belum dapat sepenuhnya efektif mencegah terjadinya reaksi oksidasi, terutama reaksi fotooksidasi.

Fotooksidasi asam lemak tak jenuh dapat dihambat dengan zat penstabil (*quencher*) oksigen singlet. Alpa-tokoferol, karotenoid, askorbil palmitat, retinil palmitat dan asam askorbat dapat digunakan untuk mengurangi oksidasi oksigen singlet dari minyak dan komponen-komponen yang larut minyak (Lee dan Min, 1990; Lee *et al.*, 1997; Jung *et al.*, 1998). Alpa-tokoferol dapat berfungsi sebagai antioksidan dalam kondisi ootooksidasi, tetapi kemampuan penstabil oksigen singlet kurang efektif daripada β -karotene.

¹) Department of Chemistry, Fac. of Mathematics and Natural Science, Sam Ratulangi University, Manado

²) Department of Food and Agricultural Product Technology, Fac. of Agricultural Technology Gadjah Mada University, Yogyakarta

³) Department of Chemistry, Fac. of Mathematics and Natural Science, Gadjah Mada University, Yogyakarta

Senyawa β -karotene dapat berfungsi sebagai penstabil oksigen singlet dan penstabil sensitiser dalam minyak kedele (Yang *et al.*, 2002). Beberapa tanaman dari rempah-rempah dilaporkan dapat berfungsi sebagai antifotooksidasi dalam sistem model. Hall dan Cuppsett (1993) melaporkan bahwa oleoresin rosemary yang dipucatkan maupun tidak mempunyai aktivitas penstabil oksigen singlet dalam minyak kedele. Penelitian lain melaporkan bahwa ekstrak metanol dari cengkeh (*Eugenia caryophylla* Thunb.) menunjukkan antifotooksidasi dalam asam linoleat dengan sensitiser klorofil dan metilen blue (Jung *et al.*, 1999).

Buah andaliman merupakan rempah tradisional yang dimanfaatkan sebagai bumbu masak dalam berbagai masakan khas, misalnya mengolah buah andaliman dalam masakan daging dan tahan beberapa hari tanpa menimbulkan bau. Penggunaan buah andaliman sebagai sumber antioksidan alam telah dilaporkan oleh Wijaya (1999). Sejalan dengan itu, Edi Suryanto dan Rorong (2001) melaporkan bahwa oleoresin buah andaliman mempunyai aktivitas antioksidan relatif sama dengan BHT. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak buah andaliman menunjukkan aktivitas antiradikal yang lebih tinggi dari \pm -tokoferol dan BHT (Edi Suryanto *et al.*, 2003). Efek ekstrak buah andaliman telah dipelajari untuk aktivitas antioksidannya dalam banyak penelitian, tetapi tidak ada data yang tersedia untuk efek fotooksidasi terhadap bahan pangan. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan efek penstabil oksigen singlet dari ekstrak andaliman pada fotooksidasi asam linoleat dengan sensitiser eritrosin.

METODE PENELITIAN

1. Bahan dan alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah andaliman (utuh) yang diperoleh dari Sidikalang, Sumatera Utara. Beberapa bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah berkualifikasi pro analisis : heksana, aseton, metanol, etanol, asam asetat, kalium iodida, natrium tiosulfat dan α -tokoferol diperoleh dari Merck (Darmstadt, Germany), eritrosin diperoleh dari pasar lokal. Asam linoleat diperoleh dari Sigma Chemical Co. (St. Lois, MO). Alat-alat yang digunakan adalah botol serum, gelas ukur, gelas Erlenmeyer, mikro buret, timbangan analitis digital, light meter Extech (Cole-Palmer Instrument, Co.), 4 buah lampu fluoresen Silvania 15 Watt dan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV 1601.

2. Ekstraksi buah andaliman

Buah yang telah kering kemudian digiling dengan menggunakan grinder kemudian diayak pada ukuran 40 mesh. Serbuk yang lolos 40 mesh disimpan dalam kantong-kantong plastik sebelum diperlakukan. Prosedur yang digunakan pada ekstraksi buah andaliman seperti yang diuraikan Edi Suryanto *et al.* (2004). Metode ekstraksi secara sekuensial (heksana, aseton dan etanol) digunakan untuk mengekstrak buah andaliman.

3. Efek fotodegradasi eritrosin terhadap cahaya

Prosedurnya menurut metode Bilgi dan Demir (2005) dengan sedikit dimodifikasi. Sebanyak 15 mL (100 mg L^{-1}) eritrosin dilarutkan dalam akuades dan diletakkan dalam vial

berkapasitas 30 mL (60 mm x 30 mm). Larutan ini kemudian diiluminasi dengan cahaya fluoresen pada intensitas cahaya 4000 lux (diukur dengan light meter Extech) dalam kotak pencahayaan (70 x 50 x 60 cm). Sampel setelah pencahayaan selama 5 jam diambil 100 mL dan diencerkan dengan 5 mL akuades. Efek fotodegradasi eritrosin dibaca absorbansi pada $\lambda = 524 \text{ nm}$ dengan spektrofotometer UV 1601 UV-Vis.

4. Efek eritrosin dan riboflavin terhadap fotooksidasi asam linoleat

Perbedaan konsentrasi eritrosin dan riboflavin dicobakan adalah 0, 25, 50, 75 dan 100 ppm. Sampel dari campuran tersebut sebanyak 10 mL diambil dan dimasukkan ke dalam botol serum yang berukuran 30 mL yang dilengkapi dengan penutup karet dan aluminium foil. Botol tersebut kemudian diletakkan dan disimpan di dalam kotak (70 x 50 x 60 cm) dengan intensitas cahaya 4.000 lux. Angka peroksida diukur setiap interval waktu 1 jam selama 5 jam dengan metoda AOCS (1990).

5. Efek ekstrak buah andaliman terhadap fotooksidasi asam linoleat

Prosedurnya menurut metode Lee *et al.*, (1997) dengan sedikit dimodifikasi. Efek ekstrak terhadap fotooksidasi menggunakan konsentrasi: 500 ppm dalam asam linoleat 1% (b/v) yang dipersiapkan dalam metanol dan mengandung 100 ppm eritrosin sebagai sensitiser. Prosedur selanjutnya sama seperti yang diuraikan di atas.

6. Penentuan pemucatan eritrosin

Prosedurnya menurut metode Jiang dan Kamal-Eldin (1998) dengan sedikit dimodifikasi. Sampel setelah pencahayaan selama 5 jam diekstraksi dengan heksana, lapisan bawah diambil 100 mL dan diencerkan dengan 5 mL akuades. Absorbansi eritrosin dibaca pada $\lambda = 524 \text{ nm}$ dengan spektrofotometer UV 1601 UV-Vis.

7. Analisis statistik

Semua data eksperimen dianalisis dengan analisis ANOVA dengan dua atau tiga ulangan dan analisis secara statistik ($p < 0,05$) dilakukan menggunakan software SPSS versi 12. Duncan's multiple range test (DMRT) digunakan untuk melihat efek perlakuan ekstrak andaliman terhadap fotooksidasi asam linoleat.

HASIL DAN DISKUSI

1. Efek fotodegradasi eritrosin

Pengujian efek 100 mg L^{-1} eritrosin dalam akuades terhadap cahaya fluoresen (4000 lux) pada suhu kamar yang ditunjukkan pada Gambar 1. Hasil ini menunjukkan bahwa absorbansi eritrosin menurun secara signifikan selama 5 jam penyinaran cahaya fluoresen ($p < 0,05$). Akan tetapi, eritrosin tidak signifikan berbeda pada kondisi tanpa cahaya sebagai fungsi waktu pencahayaan selama 5 jam dalam larutan akueus seperti disajikan pada Gambar 1. Ini membuktikan bahwa efek dekomposisi fotokimia dari eritrosin berhubungan positif dengan energi cahaya yang terserap. Bilgi dan Demir (2005) melaporkan bahwa *Reactive Orange 16* yang disinari cahaya ultraviolet terbukti dapat menurunkan absorbansi selama 100 menit. Menurut

Pine *et al.* (1988) proses fotokimia merupakan penyerapan cahaya untuk menghasilkan molekul tereksitasi elektron. Dalam molekul tereksitasi akan mengalami perubahan kimia tanpa melibatkan molekul lain atau bereaksi dengan molekul pada keadaan dasar. Molekul keadaan dasar mungkin saja merupakan bentuk tak tereksitasi dari molekul tereksitasi atau suatu konstituen dari campuran reaksi.

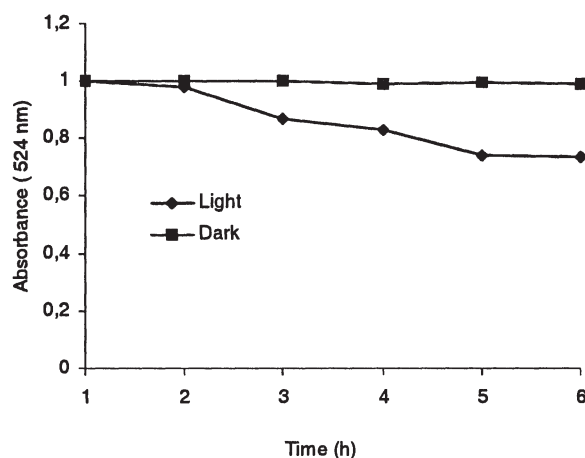


Figure 1. Effect of 100 mgL⁻¹ erythrosine in aquades under fluorescent light illumination dan without light for 5 h

Rohatgi-Mokherjee (1978) menyatakan bahwa molekul yang berada pada keadaan tereksitasi akan lebih mudah melakukan pemutusan ikatan (disosiasi) daripada molekul pada keadaan dasar. Hal ini dapat terjadi karena molekul pada keadaan tereksitasi, elektronnya terikat lebih lemah atau jauh dari inti daripada molekul pada keadaan dasar. Eritrosin merupakan sensitiser yang dapat menyerap energi dari cahaya ultra violet atau cahaya visible secara cepat dan menjadi tidak stabil selanjutnya tereksitasi untuk membentuk molekul pada keadaan singlet tereksitasi (¹Sen*). Menurut Min dan Bob (2002) molekul singlet tereksitasi ini dapat kehilangan energinya melalui konversi internal (*internal conversion*), emisi cahaya atau persilangan antar-sistem (*intersystem crossing*). Sensitiser tereksitasi dapat mengalami persilangan-antar-sistem dari molekul singlet tereksitasi (¹Sen*) menjadi sebuah molekul triplet tereksitasi (³Sen*). Persilangan antar-sistem merupakan proses pelemahan yang menyangkut hilangnya energi sensitiser dan menjadi molekul triplet tereksitasi (³Sen*). Walaupun penyilangan antar-sistem merupakan proses terlarang namun ini tetap terjadi pada banyak molekul yang tereksitasi (Pine *et al.* 1980). Karena molekul triplet tereksitasi (³Sen*) mempunyai energi lebih rendah daripada molekul singlet tereksitasi (¹Sen*), maka peralihan singlet ke triplet menghasilkan suatu molekul tereksitasi dalam keadaan triplet yang energinya lebih tinggi. Akibatnya molekul triplet tereksitasi (³Sen*) ini memiliki keadaan tereksitasi yang paling lama umurnya daripada molekul singlet tereksitasi (¹Sen*). Selanjutnya molekul triplet tereksitasi (³Sen*) akan bereaksi dengan molekul oksigen triplet (³O₂) untuk membentuk molekul oksigen singlet (¹O₂). Sensitiser (eritrosin) akan kembali pada keadaan dasar (¹Sen) dan dapat memulai siklus kembali untuk menghasilkan oksigen sin-

glet (Kohhevar dan Redmond, 2000).

Riboflavin merupakan vitamin B₂ yang banyak terdapat pada bahan makanan seperti susu dan telur. Menurut Allen dan Park (1979) riboflavin yang diberi cahaya dapat secara langsung terdegradasi dan dapat langsung bereaksi dengan oksigen singlet. Hal ini disebabkan pada fotodegradasi riboflavin terdapat banyak ikatan rangkap yang selanjutnya dapat menghasilkan senyawa lumiflavin dan lumikrom. Stracke *et al.* (1999) melaporkan bahwa zat warna derivat dari xantin seperti rose bengal dan rhodamin terbukti dapat membentuk oksigen singlet secara langsung dengan menggunakan spektrometer fosforesen. Hasil ini juga menunjukkan bahwa rose bengal dapat menghasilkan konsentrasi oksigen singlet sebanyak 40 kali lebih tinggi daripada rhodamin. Selanjutnya, Whang dan Peng (1998b) melaporkan bahwa fotokimia klorofil sangat potensi untuk membentuk oksigen singlet dan radikal anion superoksida dalam bahan makan. Dalam penelitian yang berbeda menunjukkan bahwa fotokimia mioglobin juga dapat menghasilkan oksigen singlet dan radikal anion superoksida (Whang dan Peng, 1998c).

2. Efek eritrosin dan riboflavin terhadap fotooksidasi asam linoleat

Efek berbagai konsentrasi eritrosin dan riboflavin pada konsentrasi 0, 25, 50, 75 dan 100 ppm terhadap fotooksidasi asam linoleat 1% dalam metanol selama 5 jam disinari cahaya fluoresen 4000 lux disajikan pada Gambar 2. Eritrosin menunjukkan lebih efektif daripada riboflavin pada tingkat konsentrasi yang sama. Sebaliknya, asam linoleat yang diberi cahaya tanpa sensitiser (K-1) atau tanpa cahaya (K-2) angka peroksidanya tidak menunjukkan kenaikan secara signifikan ($p > 0,05$). Hal ini membuktikan bahwa asam linoleat yang tidak diberi eritrosin atau riboflavin tidak dapat menghasilkan oksigen singlet dari oksigen triplet. Min dan Bob (2002) menyatakan bahwa oksigen singlet dapat dihasilkan dari oksigen triplet dengan hadirnya sensitiser dan cahaya. Adanya sensitiser seperti eritrosin dan riboflavin dapat meningkatkan reaksi oksidasi, karena sensitiser memiliki kemampuan untuk menyerap energi cahaya selanjutnya membentuk hidroperoksida melalui reaksi fotooksidasi. Fotooksidasi oksigen singlet dalam asam linoleat dapat menghasilkan hidroperoksida pada posisi ikatan rangkap terkonjugasi 9-OOH dan 13-OOH dan tak terkonjugasi 10-OOH dan 12-OOH. Otoksidasi oksigen triplet pada asam linoleat menghasilkan hidroperoksida pada posisi terkojugasi 9-OOH dan 13-OOH (Neff dan Frangkel, 1980).

Ada hubungan bahwa semakin besar konsentrasi eritrosin yang diberikan semakin tinggi perubahan angka peroksida yang terbentuk. Sebaliknya, riboflavin tidak menunjukkan kenaikan angka peroksida yang begitu signifikan pada fotooksidasi asam linoleat selama 5 jam penyinaran. Perubahan angka peroksida ini sangat tergantung pada konsentrasi. Hasil ini juga membuktikan bahwa eritrosin lebih kuat sebagai fotosensitiser daripada riboflavin dalam mengoksidasi asam linoleat. McLearie *et al.* (1992) melaporkan bahwa eritrosin memiliki kemampuan yang besar untuk menghasilkan oksigen singlet daripada riboflavin pada fotooksidasi fenil linolenat dan fenil arakidonat.

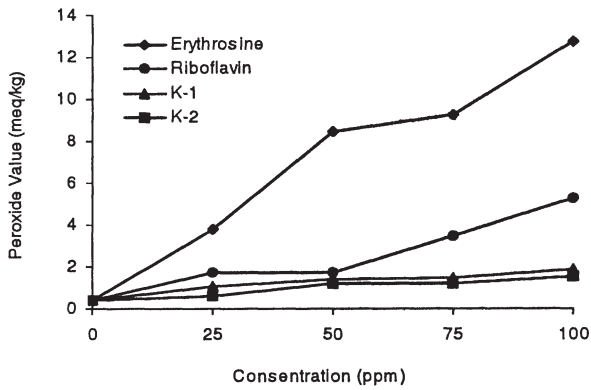


Figure 2. Effect of different concentrations of erythrosine and riboflavin on photooxidation of linoleic acid in methanol under fluorescent light illumination for 5 h (K-1: light with erythrosine; K-2: without light)

Pan *et al.* (2005) melaporkan bahwa efek struktur dari sensitiser sangat mempengaruhi terhadap kemampuan produksi oksigen singlet. Senyawa yang dapat berfungsi sebagai sensitiser yang kuat memiliki kerangka struktur xantin dan memiliki substituen atom halogen dan hidrogen yang terdapat pada kerangka xantin. Sejalan dengan itu, bertambah besarnya nomor atom dan massa atom dari substituen halogen terhadap kerangka xantin dapat meningkatkan rendemen reaksi penyilangan antar sistem menjadi keadaan triplet tereksitasi dari sensitiser (DeRosa dan Crutchley, 2002; Gutierrez dan Garcia, 1998). Atas dasar ini, eritrosin lebih kuat menghasilkan oksigen singlet daripada riboflavin, karena eritrosin memiliki kerangka xantin dan memiliki 4 atom iodium sebagai substituen, sedangkan riboflavin tidak mempunyai kerangka xantin dan substituen halogen. Hasil penelitian ini sesuai dengan laporan Choe *et al.* (2004) yang menyatakan bahwa oksidasi lipida yang disensitasi oleh riboflavin relatif lebih rendah laju degradasinya dibandingkan dalam protein.

3. Efek ekstrak andaliman terhadap fotooksidasi asam linoleat

Efek 500 ppm dari ekstrak heksana (EH), ekstrak sekuensial heksana-aseton (ESHA) dan ekstrak sekuensial heksana-aseton-etanol (ESHAE) terhadap angka peroksida asam linoleat yang diberikan cahaya sebesar 4000 lux dapat dilihat pada Gambar 3. Ekstrak sekuensial heksana-aseton-etanol (ESHAE) mempunyai efek yang paling kuat untuk penstabilan (*quencher*) oksigen singlet yang diikuti oleh ESHA dan EH selama 5 jam penyinaran cahaya fluoresen ($p < 0.05$). Eritrosin yang diberi cahaya (K-1) menunjukkan perubahan angka peroksida yang terus meningkat selama penyinaran 5 jam. Kemungkinan dapat dijelaskan bahwa eritrosin yang digunakan sebagai sensitiser dapat bertindak sebagai inisiator fotooksidasi asam linoleat dan ini dibuktikan dengan naiknya angka peroksida minyak selama penyinaran 5 jam.

Fotosensitiser seperti eritrosin dapat menyerap cahaya dan mentransformasikan menjadi keadaan tereksitasi selanjutnya berubah menjadi sensitiser pada keadaan triplet yang kurang stabil. Sensitiser dapat memindahkan energinya kepada oksigen pada keadaan triplet yang lebih stabil. Karena tingkat energi sensitiser sangat tinggi

sehingga dapat mengubah oksigen triplet menjadi oksigen singlet. Selanjutnya oksigen singlet dapat menyerang ikatan rangkap yang terdapat dalam asam lemak tak jenuh seperti asam linoleat.

Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil sebelumnya yang menggunakan eritrosin sebagai sensitiser. Yang *et al.* (20002) melaporkan bahwa eritrosin dapat menurunkan *headspace* (oksigen triplet) dalam minyak kedele dengan meningkatnya konsentrasi (0, 5, 20, 100 dan 200 ppm) selama penyinaran 4 jam. Pan *et al.* (2005) melakukan penelitian efek eritrosin terhadap hidroperoksida yang terbentuk dalam metil linoleat dengan menggunakan HPLC dan spektroskopi GC-MS, hasilnya menunjukkan bahwa puncak 1, 13-hidroperoksida-*cis*-9, *trans*-11-oktadekadienoat; puncak 2, 12-hidroperoksida-*cis*-9, *trans*-13-oktadekadienoat; puncak 3, 13-hidroperoksida-*trans*-9, *trans*-11-oktadekadienoat; puncak 4, 9-hidroperoksida-*trans*-10, *cis*-12-oktadekadienoat; puncak 5, campuran 10-hidroperoksida-*trans*-8, *cis*-12-oktadekadienoat dan 9-hidroperoksida-*trans*-10, *trans*-12-oktadekadienoat. Hasil hidroperoksida ini merupakan produk utama akibat terjadinya fotooksidasi oleh sensitiser. Hidroperoksida ini selanjutnya terdekomposisi menjadi volatil *off-flavor* (Warner dan Frankel, 1987; Jung *et al.*, 1991).

Data sampel angka peroksida tanpa eritrosin (K-2) dalam asam linoleat tidak berbeda secara signifikan selama 5 jam penyinaran dengan cahaya fluoresen. Hasil ini juga menunjukkan bahwa tanpa eritrosin walaupun diberi cahaya tak dapat mengalami perubahan angka peroksida secara signifikan ($p < 0.05$). Oleh karena itu, pembentukan oksigen singlet tak dapat terjadi tanpa hadirnya sensitiser dan cahaya untuk yang dapat mempercepat terjadinya fotooksidasi asam lemak tak jenuh (Rawls and Van Santen, 1970; Lee *et al.*, 1997; Jung *et al.*, 1999; Yang *et al.*, 2002; Pan *et al.*, 2005).

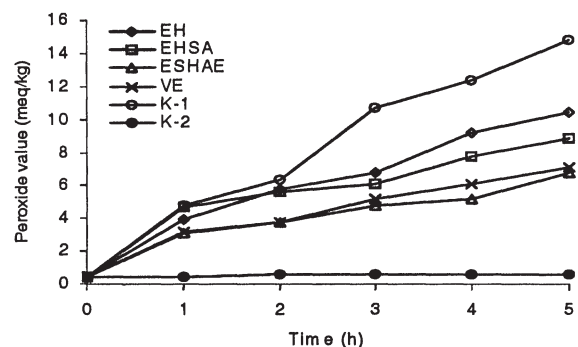


Figure 3. Effect of 500 ppm hexane extract (EH), acetone extract (ESHA) dan ethanol extract (ESHAE) on the erythrosine-sensitized photooxidation of linoleic acid in methanol under fluorescent light illumination for 5 h (VE: a-tokoferol; K-1: light with erythrosine; K-2: light without erythrosine)

Efek konsentrasi 500 ppm ESHAE dalam sistem model menunjukkan perbedaan secara signifikan dengan 500 ppm VE (a-tokoferol). Akan tetapi, konsentrasi 500 ppm EH dan ESHA berbeda secara statistik ($p < 0.05$) dengan 500 ppm of a-tokoferol. Vitamin E (a-tokoferol) merupakan antioksidan alami yang banyak digunakan sebagai penghambat oksidasi lipida dalam bahan pangan. Disamping

itu, a-tokoferol telah dilaporkan sebagai penstabil (*quencher*) oksigen singlet dalam minyak kedele (Jung *et al.*, 1991). Dalam penelitian ini, antioksidan sintesis seperti BHT dan BHA tidak digunakan sebagai kontrol positif, karena kedua antioksidan ini tidak memiliki sifat-sifat antioksidatif dalam fotooksidasi asam lemak tak jenuh (Carlsson *et al.*, 1976; Jung *et al.*, 1999; Chacon *et al.*, 2000).

4. Efek pelarut pengeksrak terhadap fotooksidasi asam linoleat

Efek pelarut pengeksrak terhadap aktivitas antifotooksidatif dari ekstrak andaliman dalam asam linoleat 0,05 M yang disinari cahaya fluorensen selama 5 jam dapat dilihat pada Gambar 4. Ekstrak heksana (EH), ekstrak sekuensial heksana-aseton (ESHA) dan ekstrak sekuensial heksana-aseton-etanol (ESHAE) menghasilkan persen penghambatan berturut-turut: 25,0; 47,22 dan 66,67 % terhadap fotooksidasi asam linoleat.

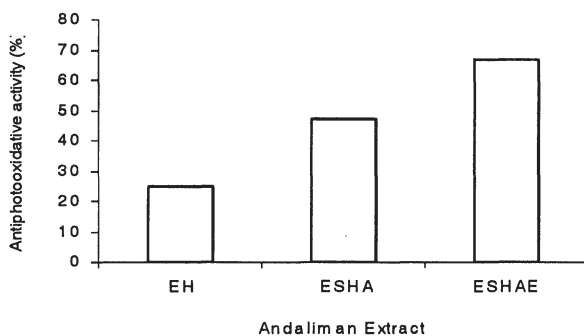


Figure 4. Effect of 500 ppm hexane extract (EH), acetone extract (ESHA) dan ethanol extract (ESHAE) of andaliman fruits on the erythrosine-sensitized photooxidation of linoleic acid in methanol under fluorescent light illumination for 5 h.

Hasil ini menunjukkan bahwa ESHAE mempunyai efek penghambatan paling kuat sebagai penstabil daripada EH dan ESHA. Aktivitas antifotooksidatif ekstrak andaliman ini sangat tergantung pada polaritas dari jenis pelarut yang digunakan sebagai pengkstraksinya. Bila polaritas pelarut pengeksrak ditingkatkan, maka sifat antifotooksidatifnya juga meningkat. Hasil ini menunjukkan bahwa komponen antifotooksidatif dalam buah andaliman mempunyai sifat yang polar dan sangat mudah diekstraksi dengan pelarut polar seperti metanol dan etanol. Beberapa hasil penelitian sebelumnya yang menggunakan pelarut polar sebagai pengeksrak komponen antifotooksidatif dari bahan alam. Jung *et al.* (1999) melaporkan bahwa ekstrak metanol dari *Coptis japonica* Makino, *Eugenia caryophylla* T. dan *Ulmas japonica* Sarg menunjukkan aktivitas antifotooksidatif paling kuat daripada ekstrak eter dan ekstrak etil asetat pada fotooksidasi asam linoeat dalam hadirnya klorofil dan metilen biru. Penelitian lain, Hall dan Cuppett, (1993) melaporkan bahwa efek antifotooksidatif dari *Rosmarinus officinalis* L. yang diekstraksi dalam metanol dan selanjutnya dipucatkan dengan karbon aktif menunjukkan penghambatan paling kuat daripada tidak dipucatkan dalam minyak kedele. Selanjutnya, Takahama *et al.* (1984) melaporkan bahwa senyawa murni seperti kuersetin (flavonoid), menunjukkan kemampuan sebagai

penstabil oksigen singlet. Larson (1988) melaporkan beberapa alkaloid (brucine dan strychnine) dari berbagai tipe struktur yang ditemukan berpotensi sebagai penghambat oksigen singlet.

5. Efek pemucatan eritrosin terhadap fotooksidasi asam linoleat

Perubahan warna eritrosin selama 5 jam fotooksidasi asam linoleat dalam hadirnya ekstrak andaliman disajikan dalam Gambar 5. Efek eritrosin dalam campuran tersebut terus menurun sejalan dengan lamanya fotooksidasi, absorbansi (K₀) sebelum penyinaran adalah 0,98. Hasil pengukuran absorbansi eritrosin menunjukkan bahwa ketiga ekstrak mempunyai kemampuan untuk mencegah pemucatan (*bleaching*) eritrosin dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,05$). Efek ESHAE menunjukkan paling lambat dalam pemucatan eritrosin. Hal ini dapat dilihat dari perubahan absorbansi eritrosin dalam ESHAE yang lebih tinggi daripada ESHA dan EH selama 5 jam penyinaran cahaya fluorensen pada suhu kamar. Kemampuan ESHAE menahan laju pemucatan eritrosin mungkin disebabkan adanya komponen-komponen penyusun dalam ESHAE yang dapat bereaksi dengan eritrosin selama penyinaran atau komponen-komponen dalam ESHAE dapat bertindak sebagai fotostabilitas dalam campuran tersebut. Beberapa senyawa seperti a-tokoferol, salisilat ester, o-hidroksi benzifenon, o-hidroksi fenilbenzotriazol, flavonoid, o-hidroksi-p-oktiloksi benzofenon, dibenzoil metana dan asam siringat dilaporkan dapat berfungsi sebagai fotostabilitas (Wu *et al.*, 1986; Knox dan Dodge, 1985; Larson, 1988; Chen dan Ahn, 1998).

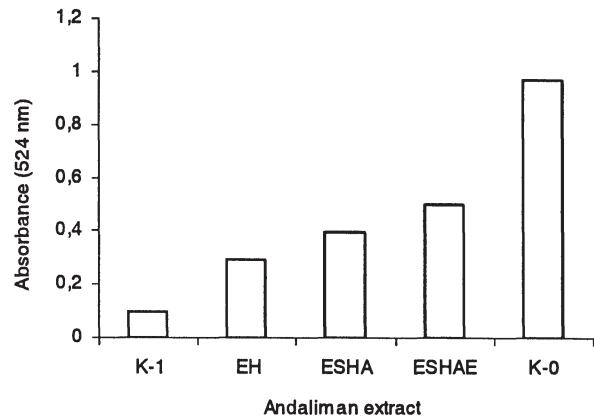


Figure 5. Bleaching of erythrosine in samples containing andaliman extract and linoleic acid during 5 hours of photooxidation photooxidation of linoleic acid in methanol under fluorescent light illumination for 5 h (EH: hexane extract, ESHA: acetone extract; ESHAE: ethanol extract; K-1: eritrosin with light; K₀: eritrosine before exposed fluorescent light)

Perubahan absorbansi eritrosin dalam campuran tersebut berhubungan secara linear dengan angka peroksida (Gambar 6). Sebagai contoh perubahan angka peroksida EH, ESHA dan ESHAE berturut-turut selama 5 jam fotooksidasi adalah 10,5; 8,9 dan 6,8 meq/kg, sedangkan perubahan absorbansi eritrosin berturut-turut dalam campuran ketiga ekstrak adalah 0,29; 0,39 dan 0,50.

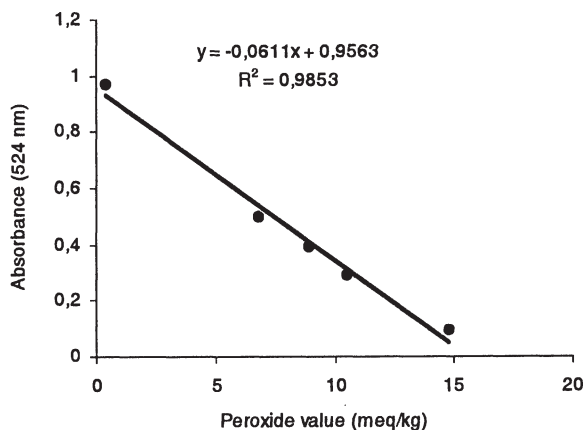


Figure 6. The corellation of peroxide value and bleaching by EH, ESHA and ESHAE. EH: hexane extract, ESHA: acetone extract; ESHAE: ethanol extract.

Data ini menunjukkan pula adanya hubungan antara perubahan angka peroksida dengan pemucatan warna eritrosin selama 5 jam pencahayaan. Persamaan regresi linear untuk pemucatan eritrosin (y) dan perubahan angka peroksida (x) adalah $y = -0,0611x + 0,9563$ dengan nilai koefisien korelasi (r^2) adalah 0,9367. Analisis korelasi antara pemucatan eritrosin dan perubahan angka peroksida menunjukkan korelasi positif yang cukup tinggi. Nilai koefisien korelasi yang cukup tinggi tersebut menandakan adanya hubungan linier yang kuat antara pemucatan eritrosin dengan perubahan angka peroksida asam linoleat. Hasil tersebut sesuai dengan laporan Jiang dan Eldin (1998), dimana pemucatan metilen blue menunjukkan hubungan dengan perubahan angka peroksida metil linoleat. Oleh karena itu, terdekomposisinya eritrosin dalam campuran tersebut membuktikan bahwa eritrosin pada keadaan tereksitasi mampu menghasilkan oksigen singlet dari oksigen triplet dan selanjutnya menyerang ikatan rangkap yang terdapat pada asam lemak tak jenuh.

Suatu molekul yang diberikan radiasi cahaya dapat menyebabkan perubahan konfigurasi elektron dari keadaan dasar menjadi keadaan tereksitasi. Selanjutnya, bila molekul pada keadaan tereksitasi akan dapat menyebabkan perubahan reaktivitas molekul. Dalam hal ini eritrosin pada keadaan dasar berubah menjadi eritrosin tereksitasi ($^3\text{Sen}^*$), selanjutnya dapat merubah oksigen triplet menjadi oksigen singlet melalui pemindahan energi. Hal ini dapat dilihat pada perubahan absorbansi (K-1) yang terus menurun dan sebaliknya meningkatkan perubahan angka peroksida asam linoleat. Dengan demikian, pembentukan oksigen singlet dari oksigen triplet dapat terjadi dalam hadirnya sensitiser dan cahaya. Pembentukan oksigen singlet dalam campuran tersebut dapat distabilkan (quenching) oleh ESHAE sehingga angka peroksidanya menjadi turun selama 5 jam disinari cahaya fluorezen (4000 lux). Pemucatan warna eritrosin ini diperkirakan berhubungan dengan terbentuknya oksigen singlet, disamping terjadinya fotodegradasi eritrosin itu sendiri. Hasil ini sesuai dengan hasil yang diperoleh Jiang dan Kamal-Eldin (1998) dalam metil linoleat dan metil linoleat terkonjugasi dengan metilen blue sebagai sensitiser. Absorbansi metilen blue tereksitasi terus menurun seiring dengan naiknya angka peroksida

metil linoleat. Selanjutnya, oksigen singlet akan menyerang ikatan rangkap pada metil linoleat sehingga perubahan angka peroksidanya semakin naik.

KESIMPULAN

Fotodegradasi larutan eritrosin dapat mengalami kerusakan oleh proses fotooksidasi di bawah cahaya fluorezen. Eritrosin dapat mempercepat oksidasi asam linoleat di bawah penyinaran cahaya fluorezen sebesar 4000 lux. Efek oksidasi asam linoleat tergantung pada besarnya konsentrasi, semakin besar konsentrasi eritrosin yang diberikan semakin cepat terjadinya oksidasi asam linoleat. Ekstrak sekuensial heksana-aseton-etanol (ESHAE) dari buah andaliman menunjukkan efek penstabil (quencher) oksigen singlet pada fotooksidasi asam linoleat dalam hadirnya sensitiser eritrosin. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa ESHAE mampu memperlambat pemucatan warna eritrosin dibandingkan dengan EH dan ESHA.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Indonesia Toray Science Foundation yang telah memberikan bantuan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Allen, C. dan O.W. Park. 1979. Photodegradation of Riboflavin to Lumichrome in Milk Exposed to Sunlight. *J. Dairy Sci.* 60: 1038-1041.
- AOCS, 1990. Official and Tentative Methods. American Oil Chemists Society, Champaign, IL.
- Bilgi, S. dan C. Demir. 2005. Identification of Photooxidation Degradation Product of C.I. Reactive Orange 16 Dye by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Dyes and Pigment.* 66: 69-76.
- Calrsson, D.J., T. Suprunchuk, dan D.M. Siles. (1976). Photooxidation of Unsaturated Oils: Effect of Singlet Oxygen Quenchers. *JAOCS.* 53: 656-660.
- Chacon, J.N., P. Gaggini, R.S. Sinclair dan F.J. Smith. 2000. Photo- and Thermal-Oxidation Studies on Methyl and Phenyl Linoleat: Anti-oxidant Behaviour and Rates of Reaction. *Chemistry and Physics of Lipids.* 62: 165-176.
- Chen, X. dan D.U. Ahn. 1998. Antioxidant Activity of Six Natural Phenolics Against Lipid Oxidation Induced by Fe^{2+} or Ultraviolet Light. *JAOCS.* 75: 1717-1721.
- Choe, E., R. Huang, D.B. Min. 2005. Chemical Reaction and Stability of Riboflavin in Foods. *J. Food Sci.* 70: 28-36
- DeRosa, M.C dan R.J. Crutchley, 2002. Photosensitized Singlet Oxygen and Its applications. *Coordination Chemistry Reviews.* 234: 351-371.
- Edi Suryanto, dan J.A Rorong. 2001, Isolasi Antioksidan Fenolik dari Oleoresin Buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.). *Eugenia.* 7: 88-92.
- Edi Suryanto, Sri Raharjo, H. Sastrohamidjojo dan Tranggono. 2004. Antiradical Activity of

- Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) Fruit Extract. Indonesian Food and Nutrition Progress. 11: 16-20.
- Frankel, E.N. 1984. Lipid Oxidation: Mechanism, Products and Methodological Significance, *JAOCS*. 61: 1908-1911
- Gutierrez, M.I. dan N.A. Garcia. 1998. Dark and Photoinduced Interactions Between Xanthene Dyes and Quinones. *Dyes and Pigment*. 38: 195-209.
- Hall III, C dan S. Cuppsett. 1993. The effects of Bleached and Unbleached Rosemary Oleoresins on Light-Sensitized Oxidation of Soybean Oil. *JAOCS*. 70: 477-482.
- Jiang, J. dan A. Kamal-Eldin. 1998. Comparing Methylene Blue-Photosensitized Oxidation of Methyl-Conjugated Linoleate and Methyl Linoleate. *J. Agric. Food Chem.* 46: 923-927.
- Jung, M.Y., J.P. Kim dan S.Y. Kim. 1999. Methanol Extract of *Coptis japonica* Makino Reduces Photosensitized Oxidation of Oils. *Food Chemistry*. 67: 261-268.
- Jung, M.Y. E. Choe dan D.B. Min. 1991. Effects of α , β , γ -Tocopherol on Chlorophylls Photosensitized Oxidation of Soybean Oil. *J. Food. Sci.* 56: 807-515.
- Korycka-Dahl, M.B. dan T. Richardson. 1978. Activated Oxygen Species and Oxidation of Food Constituents. *Crit. Rev. Food Sci. Nurt.* 10: 209-240.
- Kochevar, I.E. dan R.W. Redmond. 2000. Photosensitized Production of Singlet. Dalam L. Packer (eds). *Methods in Enzymology*. (319): 20-28.
- Knox, J.P. dan A.D. Dodge. 1985. Singlet Oxygen and Plants. *Phytochemistry*. 25: 889-896.
- Larson, R.A. 1988. The antioxidants of Higher Plants. *Phytochemistry*. 27: 969-977.
- Lee, K.H., M.Y. Jung dan S.Y. Kim. 1997. Quenching Mechanism and Kinetics of Ascorbyl Palmitate for the Reduction of the Photosensitized Oxidation of Oils. *JAOCS*. 74: 1053-1057.
- Lee, S-H. dan D.B. Min. 1990. Effects, Quenching Mechanism, and Kinetic of Carotenoids in Chlorophyll-Sensitized Photooxidation of Soybean Oil. *J. Agric. Food Chem.* 38: 1630-1634.
- McLearie, J., R.S. Sinclair, J.N. Chacon dan F.J. Smith. 1992. Synthesis and Characterisation of the Photosensitized Oxidation Reaction Products of Phenyl esters of Linoleic and Arachidonic Acids. *Chemistry and Physics of Lipids*. 62: 165-176.
- Min, D.B. dan J.M. Boff. 2002. Chemistry and Reaction of Singlet Oxygen in Foods. *Food Science and Food Safety*. 1: 58-72.
- Neff, W.E. dan E.N. Frankel. 1980. Quantitative Analysis of Hydrostearate Isomers from Hydroperoxide by High Pressure Liquid Chromatography of Autoxidized and Photosensitized-Oxidized Fatty Esters. *Lipid*. 15: 587-590.
- Pan, X., H. Ushio dan T. Ohshima. 2005. Effects of Molecular Configurations of Food Colorants on Their Efficacies as Photosensitizers in Lipid Oxidation. *Food Chemistry*. 92:37-44.
- Pine, S.H, J.B. Hendrickson, D.J. Cram dan G.S. Hammond. 1980. *Organic Chemistry*. McGraw-Hill Inc., New York.
- Rawls, H.R. dan Van Santen, P.J., (1970), Possible Role of Singlet Oxidation in The initiation of Fatty Acid Autoxidation. *JAOCS. Soc.* 47: 121-125.
- Rohatgi-Mokherjee, M. 1977. *Fundamentals of Photochemistry*. Wiley Eastern Ltd., New York.
- Stracke, F., Ma. Heupel dan E. Thiel. 1999. Singlet Molecular Oxygen Photosensitized by Rhodamine Dyes: Corelation with Photophysical Properties of The sensitizers. *J. Photochem and Photobiol A: Chemistry*. 126: 51-58.
- Takahama, U, R.J. Youngman dan E.F. Elsnert. 1974. Transformation of Quercetin by Singlet Oxygen Generated by a Photosensitized Reaction. *Photobiochem. Photobiophys.* 7: 175-181.
- Yang, W.T., J.H. Lee dan D.B. Min. 2002. Quenching Mechanisms and Kinetics of α -Tocopherol and β -Carotene on the Photosensitizing Effect of Synthetic Food Colorant FD&C Red No. 3. *J. Food. Sci.* 67: 507-510.
- Yasaei, P.M., G.C. Yang, C.R. Warner, D.H. Daniels dan Y. Ku. 1996. Singlet Oxygen Oxidation of Lipids Resulting from Photochemical Sensitizers in the Presence of Antioxidants. *JAOCS*. 73: 117-1181.
- Warner, K. dan E.N. Frankel. 1987. Effects of β -Carotene on Light Stability of Soybean Oil. *JAOCS*. 64: 213-218.
- Whang, K. dan I.C. Peng. 1988a. Photosensitized Lipid Peroxidation in Ground Pork and Turkey. *J. Food Sci.* 53: 1596-1598.
- Whang, K. dan I.C. Peng. 1988b. Detection of Singlet Oxygen Generation by Chlorophyll Using Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy. *J. Food Sci.* 53: 1918-1919.
- Whang, K. dan I.C. Peng. 1988c. Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy Studies of The effectiveness of Myoglobin and its Derivative as Photosensitizers in Singlet Oxygen Generation. *J. Food Sci.* 53: 1863-1865..
- Wijaya, C.H. 1999. Andaliman Rempah Tradisional Sumut dengan Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba. *Bul. Teknol. dan Industri Pangan*. 2: 59-61
- Wu, S.K. G.S. Dai, L.S. Liu dan J.K. Chang. 1986. A Study of The Photo-stabilizing Behaviors of α -Diketones. *Polymer Degradation and Stability*. 16: 169-186.