

PERAN MISEL SURFAKTAN TERHADAP PARTISI ANTIOKSIDAN DAN STABILITAS OKSIDATIF EMULSI MINYAK DALAM AIR

[The Role of Surfactant Micelles on the Partitioning of Antioxidant and the Oxidative Stability of Oil-in- Water Emulsion]

Posman Sibuea¹⁾, Sri Raharjo²⁾, Umar Santoso²⁾, dan Zuheid Noor²⁾

¹⁾ Dosen di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Unika Santo Thomas Medan.

²⁾ Dosen Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian -UGM-Yogyakarta

Diterima 30 Januari 2008 / Disetujui 16 Juni 2008

ABSTRACT

Lipid oxidation system in which the fat is dispersed as emulsion droplets is still not well understood, although a large number of food exist partially or entirely in the form of emulsions. Therefore, this study was intended to examine how surfactant micelles influence the partitioning of antioxidants and hydroperoxides and how it alter the oxidative stability of oil-in-water emulsion.

To determine the ability of surfactant micelles upon the partitioning of antioxidant in oil-in-water emulsion, this type of emulsion, containing quercetin at 0, 25, 50, 75 and 100 ppm, were prepared with polyoxyethylene 100 stearyl ether (Brij 700) or polyoxyethylene sorbitan monolaurate (Tween 20) with acetate or phosphate buffer (pH 3.0 or 7.0). Structurally Brij 700 has 5 times longer polyoxyethylene groups than Tween 20. After preparation of the emulsion, surfactant micelles (0 – 2%) were incorporated into the continuous phase to give a final lipid concentration of 5%. Lipid oxidation rates, as determined by the formation of lipid hydroperoxides, decreased with increasing quercetin concentrations. At pH 3, the peroxide value was higher than that at pH 7. Brij 700 decreased production of lipid hydroperoxides from palm oil-in-water-emulsions compared to the emulsions stabilized by Tween 20. The result showed that solubilization of quercetin into the aqueous phase by Brij or Tween micelles did not alter the oxidative stability of palm oil-in-water emulsion, suggesting that surfactant micelle influenced the oxidation rate by mechanism other than antioxidant solubilization.

Key words : Quercetin, surfactant micelles, and oxidative stability

PENDAHULUAN

Mekanisme oksidasi minyak dalam sistem emulsi sangat berbeda dengan oksidasi minyak dalam bentuk curah karena fenomena lapisan antar muka. Peran lapisan antar muka menjadi menarik untuk diteliti karena sifatnya sebagai perintang fisik (*physical barrier*) yang mengubah interaksi antara minyak dan prooksidan yang larut air.

Muatan listrik lapisan antar muka pada emulsi dapat dimodifikasi lewat penggunaan surfaktan anionik, kationik ataupun nonionik. Perbedaan muatan listrik menjadi penelitian yang menarik karena mempengaruhi daya tarik atau daya tolak elektrostatik surfaktan terhadap prooksidan dan antioksidan sehingga dapat mempercepat atau memperlambat reaksi oksidasi (McClements et al., 2007; Posman et al., 2004).

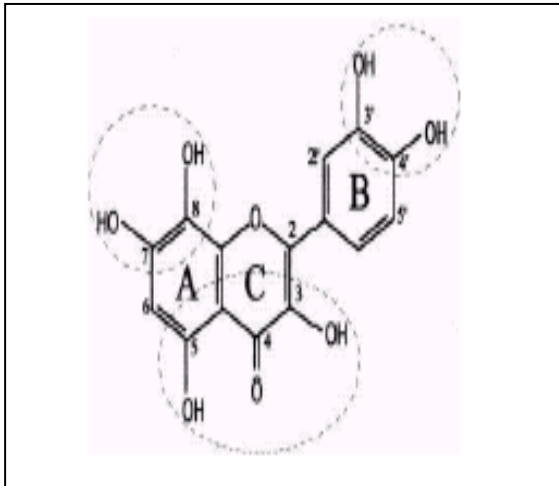
Panjang gugus polar surfaktan dan penambahan surfaktan di atas konsentrasi kritis misel (CMC) hingga membentuk misel dalam fase air diharapkan mampu menahan dan melarutkan lebih banyak kom-ponen prooksidan yang mendekati wilayah antar muka sehingga dapat meningkatkan stabilitas oksidatif emulsi minyak. Meski sejumlah penelitian menunjukkan bahwa muatan listrik lapisan antar muka

menjadi faktor penting dalam stabilitas oksidatif emulsi minyak dalam air, namun baru sedikit diketahui tentang bagaimana sifat-sifat lain lapisan antar muka berpengaruh terhadap stabilitas oksidatif (Frankel, 2005; Kim et al., 2007; McClements, 2005)

Perilaku partisi antioksidan berpengaruh terhadap reaktivitasnya dalam emulsi minyak dalam air. Antioksidan nonpolar yang berada dalam globula lemak lebih efektif menghambat oksidasi dibanding antioksidan polar yang secara nyata terpartisi ke dalam fase kontinyu. Emulsi yang mengandung surfaktan di atas CMC menghasilkan misel pada fase kontinyu. Misel ini diharapkan mampu mempartisi dan melarutkan komponen antioksidan atau prooksidan yang mendekati globula lemak ke dalam fase air sehingga diharapkan stabilitas oksidatif emulsi lebih baik. Mekanisme ini diharapkan menjadi perspektif baru untuk mengawal stabilitas oksidatif emulsi minyak dalam air.

Senyawa flavonoid seperti kuersetin merupakan antioksidan yang memiliki sifat antiradikal. Aktivitas antiradikal yang kuat berasal dari gugus OH pada posisi 3' dan 4' pada cincin B yang merupakan sistem orto-dihidroksi. Gugus OH pada cincin B lebih reaktif menangkap radikal dibandingkan gugus OH pada cincin A. Hal ini dapat dijelaskan dengan tiga alasan, pertama radikal bebas fenoksil katekol dari cincin B

(ortodihidrokso) dapat membentuk ikatan hidrogen intra-molekular sehingga menambah stabilitas radikal, kedua radikal bebas fenoksil katekol pada cincin B dapat mengubah sebuah radikal bebas benzoquinon pada posisi orto melalui resonansi, dan ketiga sifat penarik elektron kromon dari flavonoid pada cincin A menyebabkan kurang aktif menangkap radikal (Burda and Oleszek, 2001; Decker, 2002; Choe and Min, 2006). Model penangkapan radikal yang diperankan senyawa flavonoid seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Model penangkapan radikal yang diperankan senyawa flavonoid (Sumber: Amic et al., 2003)

Tujuan penelitian adalah menjelaskan mekanisme penangkapan radikal bebas oleh kuersetin dalam oksidasi minyak dan efek emulsifier (panjang gugus polar dan misel surfaktan) terhadap oksidasi emulsi minyak dalam air sehingga dapat memberi cara yang lebih efektif untuk meningkatkan stabilitas oksidatif produk pangan olahan berbasis emulsi.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak kelapa sawit yang diperoleh dari PT Astra Agro Lestari Medan. Minyak dikemas dalam wadah tidak tembus cahaya dan disimpan dalam lemari pembeku. Semua bahan kimia yang digunakan berkualitas PA seperti kuersetin, rutin, DPPH*(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), toluene, isooktan, etanol, metanol, kloroform, asam asetat glasial, heksan, petroleum eter, dietil eter, aseton, kalium mono fosfat, kalium di fosfat, natrium asetat, NaOH, FeCl₃, FeSO₄, BaCl₂, Na₂SO₄, HCl, kalium ferrisianida (K₃Fe(CN)₆), asam trichloroasetat (TCA), ammonium thiosianat, betakaroten, alpa-tokoferol, propil galat, BHT, Tween 20, Brij 700, EDTA, asam sitrat, hidroksilamin-hidroklorida, ferrozine, asam silisat 100 mesh, charcoal, selite, asam tiobarbiturat (TBA), 1,1,3,3-tetra-metoksipropana (TMP),

kalium iodium, na-tiosulfat, methanol, butanol, reagen folincioaltea.

Alat yang digunakan adalah kromatografi kolom (60 cm x 4 cm), *orbital shaker water bath*, *magnetic stirrer hot plate*, evaporator vakum berputar (*rotary vacuum evaporator*, Buchi-R111), oven, desikator, timbangan analitik, pH meter, buret mikro, sentrifugasi (T51-1, MLW), spektrofotometer (UV-1601; UV-visible spectrophotometer, Shimadzu), dan peralatan gelas baik untuk kebutuhan preparasi maupun untuk analisis.

Metode

Pemurnian minyak kelapa sawit

Minyak kelapa sawit (*refined-bleached-deodorized palm oil*, RBDPO) yang digunakan dilakukan pemurnian guna mengurangi kandungan karotenoid, tokoferol, angka peroksida dan asam lemak bebas. Pemurnian minyak sawit dilakukan dengan metode Lee and Min (1991). Minyak kelapa sawit (*refined-bleached-deodorized palm oil*, RBDPO) dilewatkan melalui kolom kromatografi berukuran 60 cm x 4 cm, yang berisi asam silisik (100 mesh) yang telah diaktivasi, campuran arang aktif dan celite (2:1) (Sigma Chemical Co.), serbuk gula dan celite (2:1), dan asam silisik yang telah diaktivasi. Kolom kromatografi dibungkus dengan aluminim foil untuk menghindari pengaruh cahaya terhadap minyak yang dimurnikan.

Pengujian terhadap minyak yang dimurnikan

Kadar tokoferol dianalisis menggunakan metoda spektrofotometri (Mochamad Adnan, 1980) dan kadar karotenoid ditera dengan metoda spektrofotometri (Proctor and Snyder, 1987). Angka peroksida dan asam lemak bebas diuji dengan metode titrasi (Shahidi dan Wanasundra, 2002). Pengujian ini dimaksudkan untuk memastikan kadar antioksidan alami karoten dan tokoferol serta angka peroksida minyak sawit yang sudah dimurnikan.

Uji aktivitas antiradikal kuersetin dan rutin

Percobaan ini dimaksudkan untuk mengetahui kemampuan kuersetin mendonorkan ion hidrogen kepada radikal bebas. Percobaan dilakukan dengan uji DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dengan metode yang digunakan Nenadis dan Tsimidou (2002).

Peran misel surfaktan terhadap partisi kuersetin dan stabilitas oksidatif emulsi minyak dalam air

Penelitian ini terdiri dari 4 (empat) tahap percobaan. Yaitu 1. Pengukuran stabilitas emulsi, 2. Efek pH terhadap stabilitas oksidatif minyak dalam sistem emulsi, 3. Efek penambahan berbagai konsentrasi surfaktan nonionik terhadap partisi kuersetin dalam sistem emulsi, 4. Efek penambahan berbagai konsentrasi surfaktan nonionik terhadap stabilitas oksidatif minyak dalam sistem emulsi minyak dalam air.

Pengukuran stabilitas emulsi

Pengukuran stabilitas dilakukan dengan metode Aoki et al.,(1984) yang didasarkan pada perubahan persentase lemak di dalam fase air setelah disentrifus pada kecepatan rendah. Sampel emulsi disentrifus pada kecepatan 200 rpm selama 15 menit. Cream dan fase air dipisahkan, lalu ditentukan kadar lemak pada fase air. Persamaan berikut digunakan menghitung nilai stabilitas.

$$\text{Indeks stabilitas (\%)} = \frac{\% \text{ lemak dalam fase air}}{\% \text{ lemak mula-mula dalam emulsi}} \times 100$$

Efek pH terhadap pembentukan hidroperoksida

Pembuatan emulsi dilakukan berdasarkan metode Ponginebbi et al., (1999). Emulsi minyak sawit dalam air sebanyak 100 ml dipersiapkan dalam gelas erlenmeyer 250 ml. Minyak sawit yang telah dimurnikan sebanyak 10 g dan emulsifier sesuai perlakuan (Brij 700 dan Tween 20), masing-masing 1 persen, didispersikan dalam buffer asetat pH 3,0 (P₁) dan pH 4,0 (P₂) dan buffer fosfat pH 5,0 (P₃), pH 6,0 (P₄) dan pH 7,0 (P₅). Kemudian diaduk dengan magnetik stirrer selama 15 menit, selanjutnya diblender (emulsifikasi) selama 10 menit pada ruang pendingin dengan suhu 4°C. Selama pengadukan dan pemblanderan ke dalam sistem ditambahkan nitrogen untuk meminimalkan oksidasi.

Sebanyak 15 mL sampel emulsi dimasukkan ke dalam botol serum 25 mL yang dilengkapi dengan penutup karet yang dibungkus aluminium foil. Sampel tersebut kemudian diletakkan dan disimpan di dalam oven dengan suhu 40°C. Angka peroksida diukur dengan metode FTC (feri tiosianat) (Mochamad Adnan, 1980) setelah penyimpanan selama 1 dan 2 hari.

Efek misel surfaktan terhadap partisi antioksidan

Pembuatan emulsi dilakukan berdasarkan metode Ponginebbi et al., (1999). Emulsi minyak sawit dalam air sebanyak 100 ml dipersiapkan dalam gelas erlenmeyer 250 ml. Emulsi disiapkan dengan mencampur 10% minyak sawit ke dalam larutan yang mengandung 1% Brij 700 atau Tween 20 di dalam larutan buffer asetat pH 3 atau larutan buffer fosfat pH 7. Selanjutnya dilakukan pengadukan dengan magnetik stirrer selama 10 menit dan emulsifikasi dengan blender selama 15 menit pada ruang pendingin dengan suhu 4°C. Setelah itu ditambahkan misel surfaktan dengan konsentrasi yang bervariasi antara 0%; 0,5%; 1,0%; 1,5% dan 2,0 % di dalam larutan buffer asetat pH 3 atau buffer fosfat pH 7, hingga konsentrasi akhir kuersetin 40 ppm atau BHT 40 ppm.

Sebanyak 15 mL sampel emulsi dimasukkan ke dalam botol serum berukuran 25 mL yang dilengkapi dengan penutup karet yang dibungkus aluminium foil. Sampel tersebut kemudian dianalisa total fenol dalam fase konstinyu dengan metode Folin-Ciocalteu (Hung

and Yen, 2002) pada hari ke 0, 1, 3 dan 5 hari. Untuk memisahkan fase kontinyu dilakukan dengan sentrifugasi selama 45 menit pada suhu dingin (4°C) pada kecepatan 9.000 rpm. Fase kontinyu yang berada di lapisan dasar dipisahkan dengan disedot memakai syringe.

Efek misel surfaktan terhadap stabilitas oksidatif emulsi minyak dalam air

Pembuatan emulsi dilakukan berdasarkan metode Ponginebbi et al., (1999). Emulsi minyak sawit dalam air sebanyak 100 ml dipersiapkan dalam gelas erlenmeyer 250 ml. Emulsi disiapkan dengan mencampur 10% minyak sawit ke dalam larutan yang mengandung 1% Brij 700 atau Tween 20 di dalam larutan buffer asetat pH 3 atau larutan buffer fosfat pH 7. Setelah itu ditambahkan misel surfaktan Brij 700 atau Tween 20 dengan konsentrasi yang bervariasi antara 0%; 0,5%; 1,0%; 1,5% dan 2,0 % di dalam larutan buffer asetat pH 3 atau buffer fosfat pH 7, hingga konsentrasi akhir lemak 5%. Antioksidan kuersetin dengan konsentrasi 0 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm dan 100 ppm ditambahkan ke dalam emulsi. Sebagai kontrol positif digunakan BHT 100 ppm.

Sebanyak 15 mL sampel dimasukkan ke dalam botol serum 25 mL dengan penutup karet dibungkus aluminium foil. Selanjutnya diletakkan dalam oven dalam kondisi gelap pada suhu 40°C. Pengukuran angka peroksida dilakukan dengan metode feri tiosianat (FTC) (Mochamad Adnan, 1980). Rancangan percobaan adalah acak kelompok yang disusun secara faktorial dengan tiga kali ulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian terhadap minyak yang dimurnikan

Minyak kelapa sawit yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Refined Bleached Deodorized Palm Oil* (RBDPO). Untuk mengurangi kandungan karotenoid dan tokoferol minyak kelapa sawit yang digunakan sebagai media percobaan dilakukan pemurnian lewat kolom kromatografi yang menggunakan adsorben asam silisik, arang aktif dan celite pada perbandingan tertentu. Hasil yang diperoleh disebut sebagai minyak sawit yang telah dimurnikan dan digunakan untuk pengendalian stabilitas oksidatif emulsi minyak dalam air. Hasil analisis komponen minyak sawit yang telah dimurnikan disajikan seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Komponen minyak sawit hasil pemurnian

Komponen	Pemurnian	
	Sebelum	Sesudah
Tokoferol (ppm)	112,35	4,67
Karoten (ppm)	14,65	4,21
Angka Peroksida (meq/kg)	1,40	0,73
Asam Lemak Bebas (%)	0,15	0,08
Diena terkonjugasi	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi

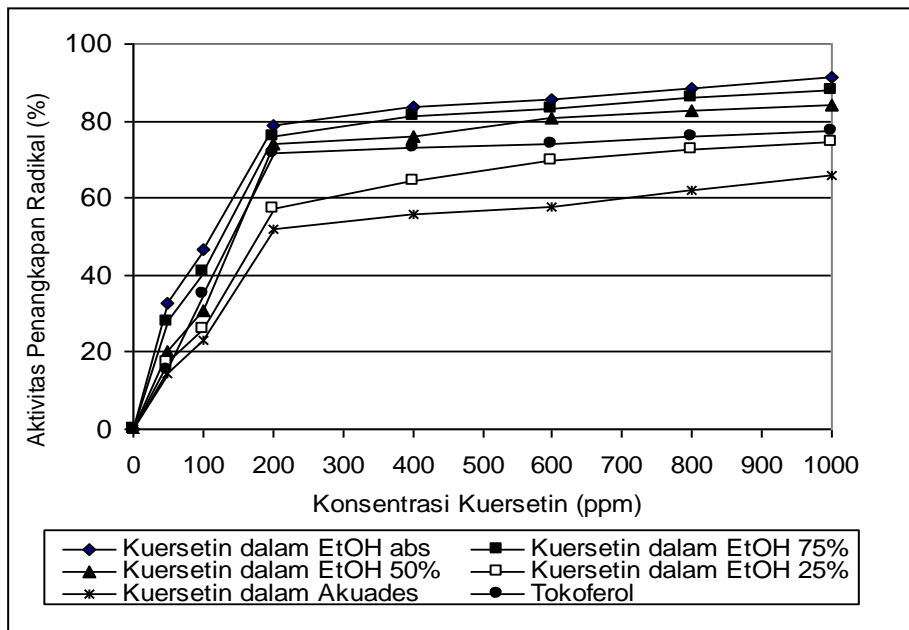
Uji aktivitas scavenger radikal bebas DPPH

Hasil penelitian menunjukkan aktivitas kuersetin sebagai penangkap radikal bebas (*radical scavenging activity*, RSA) meningkat seiring dengan naiknya konsentrasi kuersetin, seperti ditunjukkan Gambar 2.

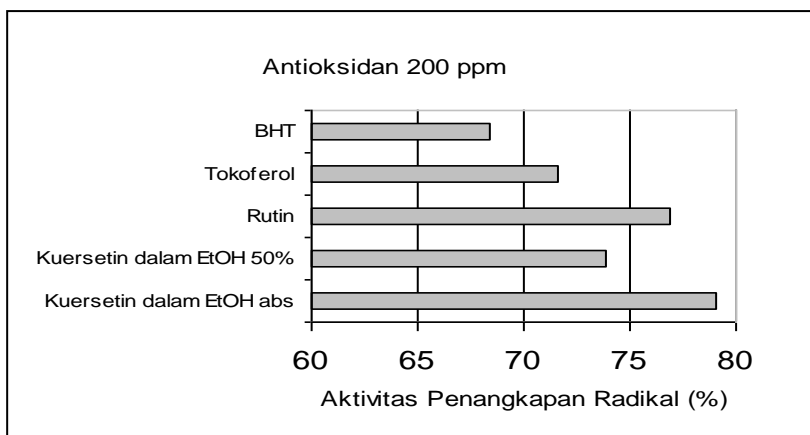
Gambar 2 menunjukkan aktivitas kuersetin dalam pelarut etanol absolut lebih besar dibandingkan dengan kuersetin dalam pelarut etanol 75 %, 50 %, 25 % dan akuades, bahkan lebih besar jika dibandingkan tokoferol yang digunakan sebagai kontrol positif ($p < 0,05$). Secara berturut peningkatan aktivitas kuersetin pada konsentrasi 200 ppm adalah 79,02%, 76,02%,

73,87%, 57,32% dan 51,83 %, sedangkan tokoferol 200 ppm adalah 71,65 persen. Penelitian dan Zou et al., (2004) menunjukkan aktivitas penangkapan radikal kuersetin lebih besar dari tokoferol. Aktivitas penangkapan radikal paling rendah didapatkan pada kuersetin yang dilarutkan dalam akuades.

Jika dibandingkan dengan aktivitas tokoferol, rutin dan BHT (Butylated hydroxytoluene), kuersetin yang dilarutkan dalam etanol absolut, 75% dan 50% memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas yang lebih besar dan berbeda nyata ($p < 0,05$) seperti diperlihatkan pada Gambar 3.



Gambar 2. Aktivitas kuersetin sebagai scavenger radikal bebas DPPH*. Tokoferol digunakan sebagai kontrol positif.



Gambar 3. Aktivitas penangkapan radikal bebas oleh kuersetin, BHT, tokoferol dan rutin masing-masing pada konsentrasi antioksidan 200 ppm.

Penelitian ini menunjukkan hasil yang sama dengan penelitian Burda and Oleszek (2001) yang menguji aktivitas penangkapan radikal bebas dari sejumlah senyawa flavonoid. Dijelaskan bahwa efektivitas senyawa flavonoid sebagai penangkap radikal bebas adalah pada gugus 3',4' dihidroksi cincin B dan gugus hidroksil pada posisi cincin C. Salah satu mekanisme yang dianggap bertanggungjawab terhadap aktivitas antioksidan kuersetin adalah gugus katekol yang mampu berperan menstabilkan radikal lewat ikatan hidrogen dan dislokasi elektron. Ditinjau dari struktur kimianya, kuersetin memiliki aktivitas yang kuat sebagai pemberi hidrogen (*hidrogen-donating*) karena memiliki tingkat hidroksilasi yang cukup, yakni 5 gugus OH dan lokasi gugus hidroksilnya terdapat pada sisi aktif (C5, C7, C3' dan C4'). Selain itu, kuersetin juga memiliki struktur yang mampu sebagai quenching oksigen singlet.

Pengukuran stabilitas emulsi

Hasil penelitian terhadap stabilitas emulsi yang didasarkan pada perubahan persentase lemak di dalam fase air setelah disentrifus pada kecepatan rendah selama 15 menit menunjukkan perubahan kadar minyak yang tidak signifikan dalam fase air selama lima hari penyimpanan. Hal ini menunjukkan bahwa stabilitas emulsi tetap sama selama penyimpanan 5 hari pada stabilitas emulsi ± 80 persen.

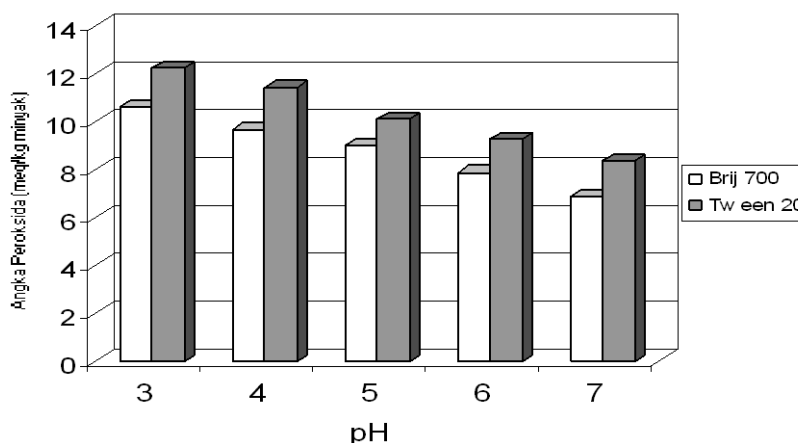
Hasil uji rata-rata Duncan menunjukkan stabilitas emulsi berbeda tidak nyata pada hari ke 0, 1, 3 dan 5 ($p > 0,05$). Hal yang sama juga ditunjukkan jenis emulsifier Brij 700 dan Tween 20 yang digunakan. Stabilitas emulsi yang tak berubah hingga hari ke-5 menunjukkan bahwa jenis emulsifier yang digunakan bersifat efektif pada sistem emulsi minyak dalam air (o/w).

Menurut Timmermann (2000), stabilitas emulsi mengacu pada kemampuan suatu emulsi untuk bertahan pada sifat-sifatnya yang baik pada jangka waktu tertentu. Suatu emulsi dapat menjadi tidak stabil karena sejumlah perbedaan pada sifat fisik dan kimia. Ketidakstabilan fisik menghasilkan perubahan penyebaran struktur molekul, sedangkan ketidakstabilan kimia menghasilkan perubahan kimia pada molekul. Kriming, flokulasi, koalesensi, koalesensi parsial, dan perubahan fase adalah contoh ketidakstabilan fisik. Sementara itu, oksidasi dan hidrolisis adalah suatu contoh yang umum dari ketidakstabilan kimia.

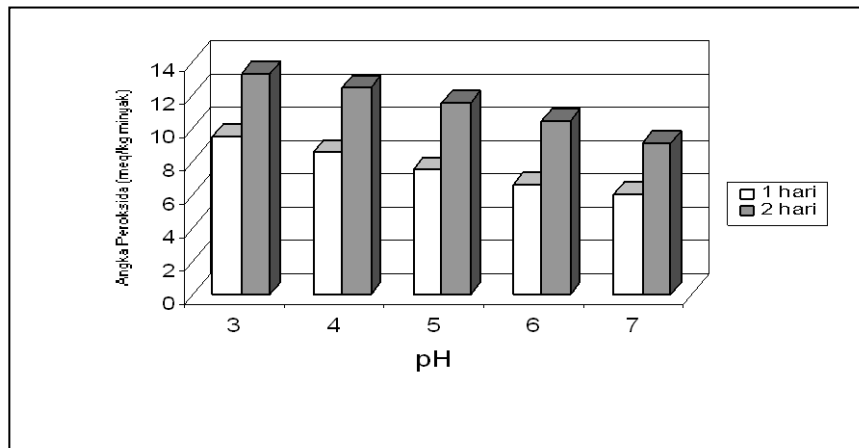
Efek pH terhadap pembentukan hidroperoksida

Salah satu faktor yang mempengaruhi oksidasi lemak dalam sistem emulsi adalah pH fase air. Secara umum, oksidasi berlangsung lebih lambat pada pH tinggi (mendekati netral) dan sebaliknya pada pH rendah oksidasi berlangsung lebih cepat. Efek pH emulsi pada pH 3, 4, 5, 6 dan 7 terhadap oksidasi lemak dalam sistem emulsi di tunjukkan pada Gambar 4 dan 5.

Gambar 4 menunjukkan efek pH yang makin meningkat terhadap pembentukan hidroperoksida. Angka peroksida pada pH 3, pH 4, pH 5, pH 6 dan pH 7 secara berturut-turut 10,62, 9,67, 8,99, 7,87 dan 6,86 meq/kg minyak pada emulsi yang distabilkan oleh Brij 700 dan memberi pengaruh berbeda nyata ($p < 0,05$). Sementara pada emulsi yang distabilkan oleh Tween 20, angka peroksida berurut-turut 12,23, 11,42, 10,07, 9,25 dan 8,35 meq/kg minyak berurut-turut pada pH 3, pH 4, pH 5, pH 6 dan pH 7 dan memberi pengaruh berbeda nyata ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa angka peroksida pada emulsi yang distabilkan Tween 20 lebih besar dan berbeda nyata ($p < 0,05$) dibanding pada emulsi yang distabilkan Brij 700.



Gambar 4. Perubahan angka peroksida dalam berbagai pH emulsi minyak dalam air yang distabilkan Brij 700 dan Tween 20.



Gambar 5. Perubahan angka peroksida minyak dalam sistem emulsi minyak dalam air pada hari ke-1 dan ke-2 dan pada pH bervariasi.

Gambar 5 menunjukkan angka peroksida pada berbagai pH pada hari pertama dan kedua. Lama penyimpanan memberi pengaruh berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap pembentukan hidroperoksida. Pada penyimpanan emulsi pada hari pertama angka peroksida lebih rendah bila dibandingkan dengan angka peroksida pada penyimpanan hari kedua. Peningkatan ini seiring dengan makin banyaknya radikal bebas yang terbentuk pada hari kedua, seperti halnya mekanisme reaksi autooksidasi merupakan proses pembentukan radikal bebas yang melibatkan tiga tahapan, yakni inisiasi, propagasi dan terminasi.

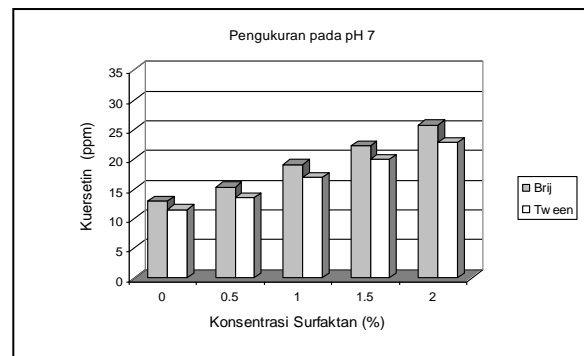
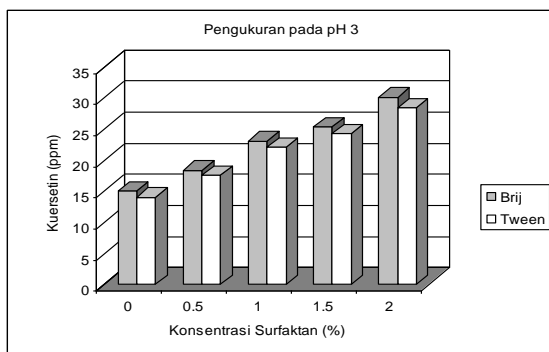
Penurunan angka peroksida terjadi seiring dengan naiknya pH emulsi, baik pada penyimpanan satu hari maupun penyimpanan dua hari. Hal yang sama ditemukan Almajano, et al., (2007) pembentukan hidroperoksida terjadi lebih banyak dalam emulsi minyak jagung yang distabilkan surfaktan nonionik Brij 100 pada pH 3 dibandingkan pada pH 7.

Hasil penelitian ini tidak berbeda dengan penelitian sebelumnya. Donelly et al., (1998)

mempelajari peran muatan listrik globula lemak (*droplet charge*) terhadap stabilitas oksidatif emulsi minyak yang distabilkan oleh isolat protein dan Tween 20. Dalam emulsi yang distabilkan Tween 20, laju oksidasi lemak lebih cepat pada pH 3 dibandingkan pada pH 7. Pada pengamatan yang lain ternyata bahwa zat besi semakin besar kelarutannya dalam air pada pH rendah sehingga dapat mempengaruhi stabilitas oksidatif emulsi. Hal sebaliknya terjadi pada emulsi yang distabilkan oleh protein dari whey, laju reaksi oksidasi lemak cenderung lebih tinggi pada pH 7, meski kelarutan zat besi semakin kecil pada kisaran pH makin tinggi. Pada pH 3 lapisan antar muka bermuatan positif sehingga menolak ion Fe, sedangkan pada pH 7 lapisan antar muka bermuatan negatif sehingga menarik logam-logam transisi.

Efek misel surfaktan terhadap partisi antioksidan

Gambar 6 menunjukkan kemampuan misel surfaktan pada berbagai konsentrasi yang ditambahkan ke dalam fase air untuk melarutkan antioksidan kuersetin dalam emulsi pada pH 3 dan pH 7.



Gambar 6. Hubungan penambahan surfaktan (Brij 700 dan Tween 20) pada berbagai konsentrasi terhadap kadar antioksidan kuersetin dalam fase air emulsi minyak dalam air pada pH 3 dan pH 7

Dari Gambar 6 dapat dilihat bahwa penambahan surfaktan yang makin tinggi kadarnya ke dalam fase air dalam sistem emulsi minyak 5 persen, semakin banyak kuersetin yang terdapat dalam fase air dan memberi pengaruh berbeda nyata ($p < 0,05$) pada uji rata-rata Duncan. Sedangkan kelarutan kuersetin pada pH 3 diperoleh lebih tinggi dibandingkan pada pH 7. Hal ini sesuai sifat kuersetin yang berupa flavonoid dari kelompok polifenol yang bersifat asam Menurut Robbins (2003) dan Cuvelier, et al., (2003) polifenol memiliki paling tidak dua subunit fenol termasuk flavonoid dan senyawa-senyawa yang termasuk dalam kelompok ini memiliki tiga atau lebih subunit fenol yang dianggap sebagai kuersetin atau bentuk tannin.

Bila dibandingkan pada emulsi yang distabilkan Brij 700, kelarutan kuersetin dan BHT ke fase air lebih sedikit pada emulsi yang distabilkan Tween 20 dan memberi pengaruh berbeda nyata ($p < 0,05$). Hal ini dimungkinkan mengingat gugus polar polioksietilen Brij 700 lebih panjang lima kali dibandingkan dengan gugus polar polioksietilen Tween 20.

Gambar 7 menunjukkan kemampuan surfaktan (Brij 700 dan Tween 20) pada berbagai konsentrasi yang ditambahkan ke dalam fase air pada emulsi minyak 5 persen untuk melarutkan BHT (butylated hidroksitoluene) ke fase air.

Bila dibandingkan dengan jumlah kuersetin yang terdapat pada fase air sebagai efek penambahan surfaktan pada berbagai konsentrasi, jumlah BHT lebih sedikit. Hal ini sesuai dengan sifat antioksidan BHT yang nonpolar, sedangkan kuersetin memiliki sifat lebih larut dalam air dibandingkan dengan BHT. Kemampuan misel surfaktan nonionik membawa antioksidan ke dalam fase air tergantung pada polaritas fenolik di dalam sistem emulsi minyak dalam air.

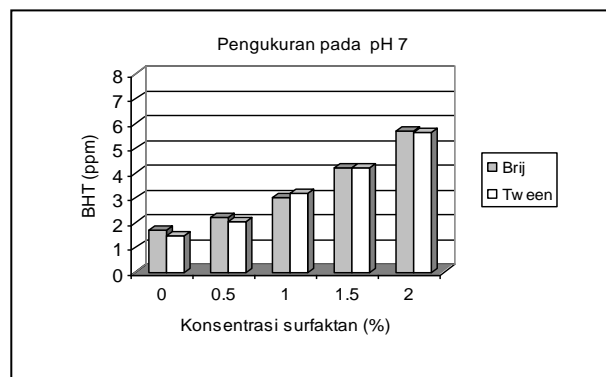
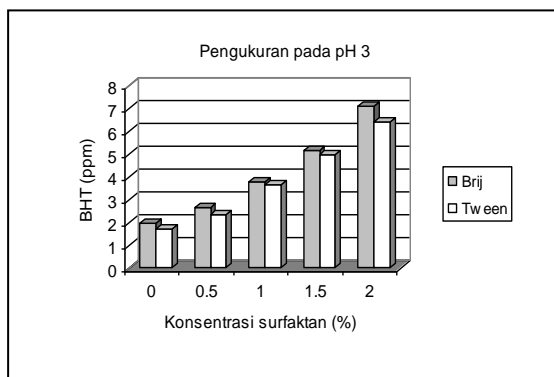
Efek misel surfaktan terhadap pembentukan hidroperoksida

Efek penambahan surfaktan (Brij 700) pada konsentrasi 0%, 0,5%, 1,0%, 1,5% dan 2,0% dan surfaktan (Tween 20) pada konsentrasi 0%, 0,5%, 1,0%, 1,5% dan 2,0% ke dalam fase air emulsi yang sudah mengandung kuersetin 0, 25, 50, 75, 100 ppm dan BHT 100 ppm sebagai kontrol masing-masing pada pH 3 dan pH 7 terhadap pembentukan peroksida ditunjukkan seperti pada Gambar 8.

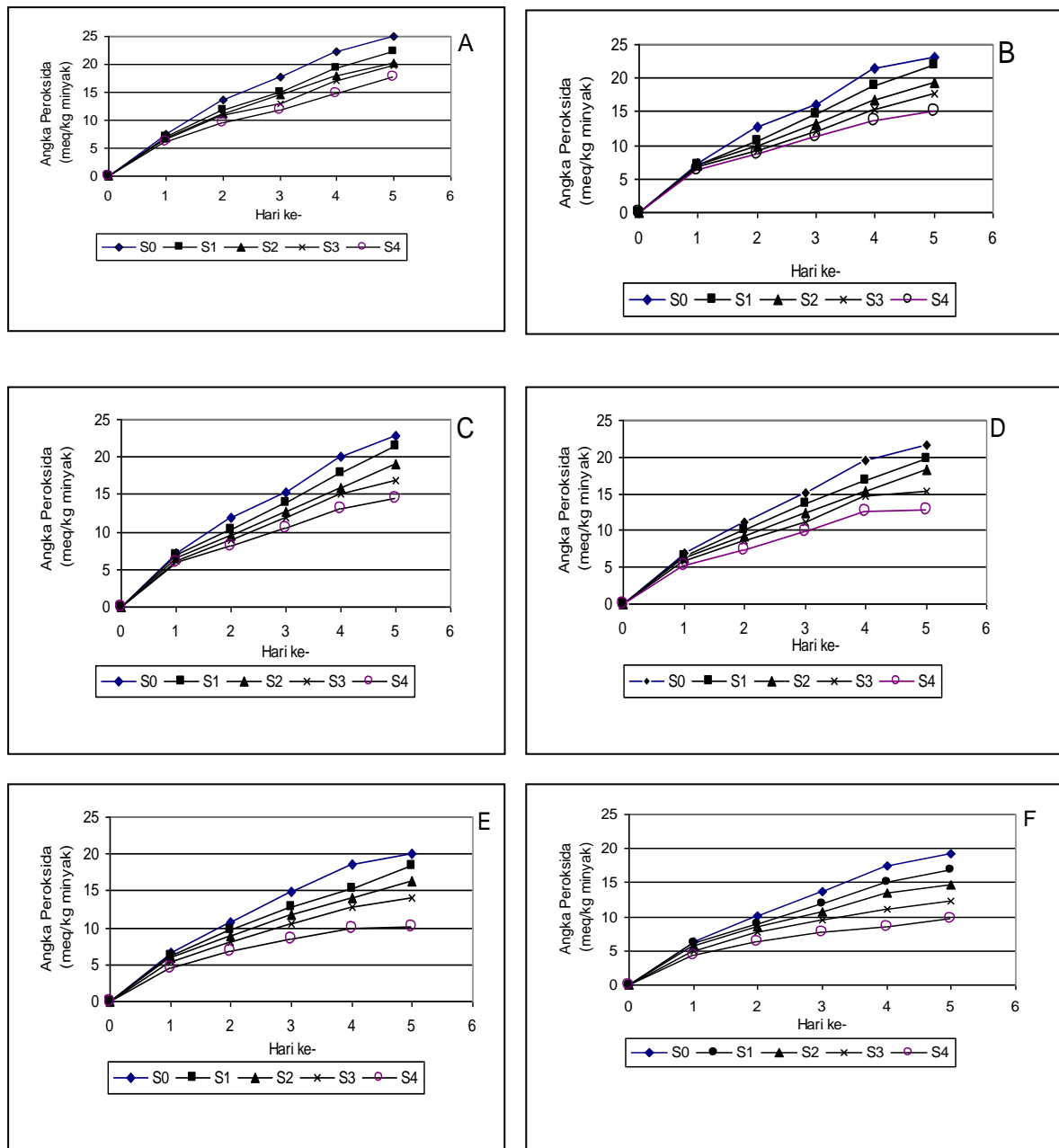
Gambar 8 A menunjukkan perlakuan tanpa penambahan antioksidan dan tanpa penambahan surfaktan (S0, 0%), pembentukan hidroperoksida meningkat secara tajam.

Namun, pada perlakuan penambahan surfaktan 2% (S4) ke dalam fase air menunjukkan penurunan angka peroksida. Pembentukan hidroperoksida makin menurun seiring dengan penambahan kuersetin 25 ppm (Gambar 8 B), 50 ppm (Gambar 8 C), 75 ppm (Gambar 8 D), 100 ppm (Gambar 8 E). Bila dibandingkan dengan BHT 100 ppm (Gambar 8 F), pembentukan hidroperoksida makin menurun. Hal ini sesuai sifat antioksidan BHT yang nonpolar lebih efektif berfungsi pada emulsi minyak dalam air.

Menurut Gordon (2001) fungsi antioksidan primer pada sistem emulsi minyak dalam air adalah memperlambat oksidasi lemak melalui inaktivasi atau penangkapan radikal bebas (*scavenging free radicals*), dalam artian menghambat reaksi inisiasi dan propagasi. *Free radical scavengers* (FRS) atau antioksidan *chainbreaking* (pemutus rantai) mampu menerima radikal dari molekul lemak yang teroksidasi seperti radikal peroksil (LOO^*) dan alkoksil (LO^*).



Gambar 7. Hubungan penambahan surfaktan (Brij 700 dan Tween 20) pada berbagai konsentrasi terhadap kadar BHT dalam fase air emulsi minyak dalam air pada pH 3 dan pH 7



Gambar 8. Hubungan penambahan surfaktan (S): 0% (S0), 0,5% (S1), 1,0% (S2), 1,5% (S3) dan 2,0% (S4) ke dalam fase air emulsi minyak dalam air yang sudah ditambahkan kuersetin 0 ppm (A), 25 ppm (B), 50 ppm (C), 75 ppm (D), 100 ppm (E) dan BHT 100 ppm (F) sebagai kontrol positif terhadap pembentukan hidroperoksida.

Antioksidan polar secara dominan berada pada fase air dan wilayah antar muka (*interfacial layer*). Sebaliknya antioksidan lipofilik (nonpolar) sebagian besar berada di dalam fase minyak dan wilayah antar muka. Fenomena ini menunjukkan bahwa suatu antioksidan bisa berubah-ubah penempatannya dalam sistem emulsi tergantung pada struktur molekulnya dan tipe surfaktan yang digunakan. Kedua faktor ini memberi implikasi penting dalam efektivitas antioksidan untuk memperlambat oksidasi lemak.

KESIMPULAN

Aktivitas kuersetin menangkap radikal bebas (*radical scavenging activity, RSA*), dilakukan dengan uji DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), meningkat seiring dengan naiknya konsentrasi kuersetin. Derajat aktivitas penangkapan radikal bebas oleh kuersetin dalam pelarut etanol absolut pada berbagai konsentrasi menunjukkan aktivitas penangkapan yang lebih tinggi dibandingkan dengan kuersetin dalam pelarut etanol 75 %, 50 %, 25 %

dan akuades, bahkan lebih tinggi jika dibandingkan tokoferol yang digunakan sebagai kontrol positif.

Penambahan surfaktan Brij 700 dan Tween 20 pada berbagai konsentrasi ke dalam fase air sampai konsentrasi minyak dalam emulsi mencapai 5% mampu meningkatkan partisi kuersetin ke dalam fase kontinyu. Meski misel surfaktan mampu meningkatkan partisi antioksidan kuersetin keluar dari globula lemak masuk ke dalam fase air, tidak menyebabkan penurunan stabilitas oksidatif emulsi minyak dalam air. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kemampuan misel surfaktan menghambat oksidasi melalui mekanisme lain sehingga dapat membantu meningkatkan stabilitas emulsi minyak dalam air.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti berterima kasih kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Depdiknas yang telah membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Almajano, M.M., R. Carbo., M.E. Delgado and M.H. Gordon. 2007. Effect of pH on the Antimicrobial Activity and Oxidative Stability of Oil-in-Water Emulsions Containing Caffeic Acid. *J. Food Sci.* 72 (5), C258–C263.
- Amic, D., D. Amic, D. Beslo, and N. Trinajstic. 2003. Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Croatica Chemica Acta CCACAA* 76 (1): 55 – 61
- Aoki, H., Y. Shirase, J. Kato, and Y. Watanabe. 1984. Emulsion Stabilizing Properties of Soy Protein Isolates Mixed with Sodium Caseinates. *J. Food Sci.* (49): 212 - 216.
- Burda, S., and W. Oleszek. 2001. Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids. *J. Ag. Food. Chem.* (49): 2774 – 2779.
- Choe, E and D.B. Min. 2006. Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. *J. Food. Sci.* (5): 169 – 186
- Cuvelier, M.E., L.L. Galves, and C. Berset. 2003. Do Antioxidants Improve the Oxidative Stability of Oil-in-Water Emulsion? *J. Am. Oil. Chem. Soc.* (80): 1101 – 1105.
- Decker, E.A. 2002. Antioxidant Mechanisms. In: Akoh C.C. and D.B. Min. Editor: *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. Marcel Dekker, Inc. New York, Basel.
- Donnelly, J.L., E.A. Decker and D.J. McClements. 1998. Iron-Catalyzed Oxidation of Menhaden Oil as Affected by Emulsifiers. *J. Food Sci.* (63): 987 – 1000.
- Frankel, E.N. 2005. *Lipid Oxidation*. 2nd ed. The Oily Press. Dundee, Scotland.
- Gordon, M. H. 2001. The Development of Oxidative Rancidity in Foods. In: Pokorny, J., N. Yanishlieva, and M.H.Gordon. Editor: *Antioxidants in Food. Practical Applications*. CRC. Woodhead Pub. Limited. Cambridge England.
- Hung, C.Y. and G.C.Yen. 2002. Antioxidant Activity of Phenolic Compounds Isolated from *Mesona procumbens* Hemsl. *J. Ag. Food. Chem.* (50): 2993 – 2997.
- Kim, H.J., H.O. Lee and D.B. Min (2007). Effects and Prooxidant Mechanisms of Oxidized α -Tocopherol on the Oxidative Stability of Soybean Oil. *J. Food. Sci.* (4): C223–C230.
- Lee, H. and D.B. Min. 1991. Effect, Quenching Mechanisms, and Kinetics of Nickel Chelates in Singlet Oxygen Oxidation of Soybean Oil. *J. Agric. Food Chem.* (39): 642-646
- McClements, D.J., E.A. Decker and J. Weiss 2007. Emulsion-Based Delivery Systems for Lipophilic Bioactive Components. *J. Food. Sci.* (72): R109 - R124
- McClements, D.J. 2005. *Food Emulsions: Principles, Practice and Techniques*. 2nd ed. CRC Press. Boca Raton, London, New York Washington, D.C.
- Mochamad-Adnan. 1980. *Lipid Properties and Stability of Partially Defatted Peanuts*. PhD Thesis. Univ. Of Illinois, Urbana-Champaign.
- Nenadis, N. and M. Tsimidou. 2002. Observations on the Estimation of Scavenging Activity of Phenolic Compounds Using Rapid 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH*) Test. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* (79): 1191 – 1195.
- Ponginebbi, L., W.W. Nawar., and P. Chinachotti. 1999. Oxidation of Linoleic Acid in Emulsions: Effect of Substrate, Emulsifier, and Sugar Concentration. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* (76): 131 – 138.
- Posman-Sibuea, Sri-Raharjo, Umar-Santoso dan Zuheid-Noor. 2004. Oksidasi Minyak dalam Emulsi: Mekanisme dan Pengendaliannya. *Agritech* (24): 210 – 216.
- Proctor, A. and H. Snyder. 1987. Adsorption of Lutein From Soybean Oil on Silicic Acid Isotherm. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* (64): 1163 - 1167.

- Robbins, R.J. 2003.** Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. *J. Ag. Food. Chem.* (51): 2866 – 2887.
- Shahidi, F. and U.N. Wanasundara. 2002.** Methods for Measuring Oxidative Rancidity in Fat and Oils. In: Akoh C.C. and D.B. Min. Editor: *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. Marcel Dekker, Inc. New York, Basel.
- Timmermann, F. 2000.** Food Emulsifiers – Basic Theory to Practical Realities. *Asia Pacifik Food Industry* (8): 64 – 67.
- Zou, Y., Y. Lu, and D. Wei. 2004.** Antioxidant Activity of a Flavonoid-Rich Extract of *Hypericum Perforatum* L. in Vitro. *J. Ag. Food. Chem.* (52): 5032 – 5039.