AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BUAH ANDALIMAN (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) DALAM BEBERAPA SISTEM PANGAN DAN KESTABILAN AKTIVITASNYA TERHADAP KONDISI SUHU DAN pH

[Antioxidative Activity of Andaliman Fruit Extract (*Z. acanthopodium DC.*) on Several Food System and its Antioxidative Stability on Temperature and pH Influence]

Tensiska [1], **C. Hanny Wijaya** [2], **dan Nuri Andarwulan** [2]

[1] Jurusan Teknologi Pertanian, FAPERTA, Universitas Padjajaran, Jl. Dipati Ukur No. 35 Bandung
[2] Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, FATETA, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga Bogor 16002

Diterima 10 September 2002/Disetujui 13 Maret 2003

ABSTRACT

The extraction of the andaliman fruit was conducted by using ethanol, and hexane. The hexane residue was reextracted by ethanol. The protection factor of the extracts is 3.823, 1.486, and 3.84 respectively. While the protection factor of BHT is 2.828. The research shows that andaliman fruit extract has the highest antioxidative activity on aqueous system. While in emulsion and oily system, andaliman extract still have a moderate activity. The antioxidative activity is relatively stabile during heating. Heating up to 175°C in aqueous system for 2 hours is merely reduce the activity to 17%. The protection effect increase during the increasing of pH (examined at pH 3,4,5,6, and 7), except at pH 4.

Key words: *Andaliman, antioxidative activity, heating, and pH.*

PENDAHULUAN

Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) merupakan salah satu bahan pangan yang memiliki potensi untuk dijadikan sebagai sumber antioksidan alami. Tanaman ini ditemukan tumbuh liar di daerah Tapanuli dan digunakan sebagai rempah pada masakan adat Batak Angkola dan Batak Mandailing. Sebagai rempah, andaliman memiliki keistimewaan seperti yang dinyatakan oleh Parhusip et al., (1999) bahwa masakan khas Batak yang menggunakan andaliman umumnya memiliki daya awet yang lebih lama. Oleh karena itu, andaliman diduga mengandung senyawa yang mempunyai aktivitas sebagai antimikroba dan antioksidan.

Di bidang pangan antioksidan digunakan untuk melindungi lemak/minyak terhadap kerusakan oksidatif. Dalam kaitan dengan aplikasinya, aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh sistem pangan yang merupakan medium bagi antioksidan tersebut. Proses panas yang diterapkan pada pengolahan pangan serta pH makanan turut pula mempengaruhi kestabilan aktivitas antioksidan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak buah andaliman pada berbagai sistem pangan dan untuk mengetahui kestabilan aktivitasnya terhadap beberapa kondisi suhu dan pH.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) yang diperoleh dari pedagang di Pasar Bogor. Bahan kimia yang dibutuhkan adalah pelarut etanol (Merck), heksana (JT Baker), bufer fosfat, air bebas ion, asam linoleat (Merck), Tween 80 (Merck), Tween 20 (Merck), kloroform (Merck), β-karoten, BHT (*Butylated Hydroxytoluene*) (Merck), minyak kedelai murni (diperoleh dari PT. Salim Oil Grain), dan kertas saring Whatman 42.

Alat yang akan digunakan adalah spektrofotometer (Shimadzu uv-160), Rancimat (Rancimat Model 743, Methrom Herisau Switzerland), *shaker, magnetic stirrer, oil bath,* dan pH meter.

Metode

Ekstraksi antioksidan andaliman

Ekstraksi Tunggal : Serbuk buah andaliman kering beku diekstraksi langsung dengan etanol sesuai metode Hammershcmidt dan Pratt (1978) dengan sedikit modifikasi. Ekstraksi dimulai dengan menimbang bubuk andaliman kering beku sebanyak 6 gram (bk), lalu diekstraksi dengan 100 ml etanol menggunakan penggoyang (*shaker*) selama 3 jam. Sebanyak 70 ml etanol kemudian ditambahkan dan campuran dipanaskan dalam penangas air pada suhu 70°C selama satu jam. Hasil ekstraksi disaring dengan penyaring vakum menggunakan kertas saring Whatman 42. Residu dicuci dengan 100 ml etanol panas dan disaring kembali dengan penyaring vakum. Kedua filtrat dicampur dan dipekatkan dengan rotavapor pada suhu 40°C dengan tekanan rendah (13.5 kgf/cm^2). Untuk menguapkan sisa pelarut dilakukan penghembusan dengan N_2. Ekstrak yang diperoleh dinamakan **ekstrak etanol**.

Ekstraksi Bertingkat : Serbuk buah andaliman kering beku diekstraksi menggunakan metode soxhlet dengan pelarut n-heksana (Houghton dan Raman, 1998). Sebanyak 6 gram (bk) bubuk andaliman dibungkus dengan kertas saring dan diekstrak dengan 150 ml heksana. Ekstraksi berlangsung sampai pelarut berwarna bening yaitu sekitar 5 jam 30 menit. Pelarut dipisahkan dengan rotavapor pada suhu 40°C. Untuk menguapkan sisa heksana dilakukan penghembusan dengan gas N_2. Ekstrak yang dihasilkan disebut **ekstrak heksana**. Residu ekstrak heksana diekstrak kembali dengan pelarut etanol menggunakan metode Hammershcmidt dan Pratt (1978). Ekstrak yang diperoleh dinamakan **ekstrak heksana - etanol**.

Pengujian kualitatif terhadap komponen fenolik

Uji flavonoid

Sebanyak 1 ml ekstrak andaliman (ekstrak etanol, ekstrak heksana, dan ekstrak heksana-etanol) dilarutkan dalam propilen glikol dan dimasukan ke dalam tabung reaksi yang berisi logam seng (Zn) dan larutan HCl 2 N. Seluruh campuran dipanaskan selama 5 hingga 10 menit. Setelah disaring dalam keadaan panas, kemudian filtrat dibiarkan dingin. Pada filtrat ditambahkan amil alkohol, lalu dikocok kuat-kuat. Warna merah/kuning pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid.

Uji tanin dan polifenol

Ekstrak andaliman (ekstrak etanol, ekstrak heksana, dan ekstrak heksana-etanol) masing-masing 1 ml ditempatkan pada dua tabung reaksi yang berbeda. Pada ekstrak pertama ditambahkan larutan gelatin 1 persen. Bila terdapat endapan putih berarti positif adanya tanin. Pada ekstrak kedua ditambahkan larutan besi (III) klorida. Bila dihasilkan warna biru hingga hitam maka disimpulkan ekstrak mengandung polifenol.

Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak andaliman dalam beberapa sistem pangan

Aktivitas antioksidan ekstrak andaliman dalam sistem *aqueous* (Wanasundara et al., 1994)

Larutan β-karoten dibuat dengan melarutkan 2.0 mg β-karoten dalam 10 ml chloroform. Sebanyak 1 ml larutan tersebut di pipet ke dalam tabung reaksi, lalu kloroform diuapkan dengan rotavapor pada suhu 40°C. Setelah itu ditambahkan 20 mg asam linoleat, 200 mg Tween 80 dan 50 ml air destilasi yang sudah diaerasi. Campuran kemudian dikocok hingga terbentuk campuran yang homogen. Sebanyak 5 ml campuran dipindahkan ke tabung berseri yang mengandung 2 mg ekstrak kering sampel.

Segera emulsi ditambahkan pada masing-masing tabung dan absorbansi pada waktu 0 menit dibaca pada panjang gelombang 470 nm yang merupakan panjang gelombang β-karoten. Absorbansi berikutnya segera dibaca setelah sampel disimpan pada penangas air suhu 50°C selama 30 menit. Aktivitas antioksidan ditunjukkan dari nilai faktor protektif (FP) yang ditentukan sebagai perbandingan absorbansi sampel setelah 30 menit dengan absorbansi kontrol.

Uji aktivitas antioksidan ekstrak andaliman dalam sistem emulsi (Huang et al., 1996b)

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode Huang et al., (1996b) dengan sedikit modifikasi. Ekstrak etanol dan ekstrak heksana-etanol masing-masing 200 ppm (2 mg ekstrak kering) diemulsikan dalam minyak kedelai murni tanpa antioksidan sebanyak 10 ml. Campuran tersebut disimpan pada botol gelas berwarna gelap dan bertutup.

Selanjutnya dibuat emulsi (o/w) 10 persen. Sebanyak 2.0 ml minyak yang sudah ditambah antioksidan, ditambah 0.2 ml Tween 20 dan dikocok dengan *stirer* selama 1 menit, lalu ditambahkan 1.8 ml air destilasi sambil terus dikocok. Setiap 2 menit kemudian ditambahkan 4 ml air destilasi sambil terus dilakukan pengocokan. Penambahan air destilasi dilakukan sebanyak 4 kali sehingga total waktu pengocokan menjadi 9 menit.

Sampel tersebut dioksidasi pada suhu 37°C pada inkubator. Analisis hidroperoksida diene terkonyugasi dilakukan pada hari ke-0, ke-2, ke-6 dan ke-12. Pengukuran nilai hidroperoksida diene terkonyugasi dimulai dengan memipet 30 μl sampel emulsi. Sampel tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 5 ml etanol absolut. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 234 nm.

Setelah diketahui absorbansi, dengan rumus Lambert – Beer ($A = \varepsilon\ b\ c$) maka dapat dicari konsentrasi hidroperoksida diene terkonyugasi karena diketahui :

ε = 26 000 untuk linoleat hidroperoksida (Chan dan Levett, diacu Frankel et al., 1994).

b = 1 cm

Proteksi antioksidan bisa diukur dengan menghitung perubahan (pertambahan) absorbansi antara hari ke-2 dengan hari ke-12 sehingga akhirnya dapat dihitung pertambahan konsentrasi hidroperoksida diene terkonyugasi yang dinyatakan sebagai mmol hidroperoksida/ kg minyak.

Uji aktivitas antioksidan ekstrak andaliman dalam sistem minyak (Metode Rancimat)

Alat yang digunakan adalah Rancimat Model 743 (Metrohm, Herisau Switzerland). Minyak kedelai murni yang sudah ditambah antioksidan ekstrak andaliman 200 ppm ditimbang 2.5 g dalam tabung reaksi alat Rancimat dan ditempatkan dalam *heating block.* Kecepatan aliran udara diatur 18 – 20 l / jam dan suhu minyak 100°C.

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan menghitung waktu induksi. Reaksi oksidasi minyak akan menghasilkan senyawa ionik yang volatil. Senyawa ionik ini dialirkan pada air bebas ion. Senyawa ionik tersebut akan mengubah konduktivitas listrik dari air bebas ion. Waktu pada saat terjadinya peningkatan konduktivitas listrik secara cepat ditentukan sebagai waktu induksi. Konduktivitas dinyatakan dalam satuan µS/cm dan waktu induksi dalam satuan jam.

Uji kestabilan aktivitas antioksidan ekstrak andaliman terhadap panas

Ekstrak andaliman (ekstrak etanol dan ekstrak heksana-etanol) masing-masing 2 mg dalam 1 ml propilen glikol ditempatkan pada tabung reaksi dan dipanaskan pada suhu 100°, 125°, 150°, dan 175°C masing-masing selama 30, 60, 90, dan 120 menit dalam *oil bath.* Aktivitas antioksidan diukur dengan metode β-karoten/linoleat (Wanasundara et al., 1994).

Uji kestabilan aktivitas antioksidan ekstrak andaliman terhadap pH

Uji stabilitas terhadap pH dilakukan dengan menggunakan metode Huang et al., (1996a) dengan sedikit modifikasi. Ekstrak andaliman sebanyak 2 mg (200 ppm) diemulsikan dalam 10 ml minyak kedelai murni. Setelah dihomogenkan campuran tersebut disimpan pada botol gelas gelap dan bertutup.

Selanjutnya dibuat emulsi (o/w) 10 persen dengan bufer fosfat pH 3, 4, 5 ,6, 7. Sampel tersebut dioksidasi pada suhu 37°C selama 12 hari pada inkubator. Aktivitas antioksidan diukur dengan metode diene terkonyugasi (Huang et al., 1996b).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi antioksidan buah andaliman

Hasil ekstraksi antioksidan dari buah andaliman dengan pelarut non polar (heksana) dan atau pelarut polar (etanol) pada ekstraksi tunggal dan bertingkat dapat dilihat pada Tabel 1.

Dilihat dari karakteristik fisik yaitu warna dan bau paling lemah maka ekstrak heksana-etanol paling memenuhi syarat bila untuk diaplikasikan pada pangan karena menurut Schuler (1990), salah satu syarat antioksidan untuk pangan adalah tidak berbau, tidak berasa dan tidak berwarna.

Penggunaan etanol sebagai pelarut untuk ekstraksi bertujuan untuk mengekstrak antioksidan yang bersifat polar. Dari beberapa hasil penelitian diketahui bahwa ekstrak polar antioksidan menghasilkan aktivitas tertinggi Menurut hasil penelitian Chang dan kawan-kawan yang diacu Tian dan White (1994) dinyatakan bahwa antioksidan yang diekstrak dengan etanol dan metanol dari rosemary dan sage memiliki aktivitas terbaik. Namun demikian penggunaan metanol dalam penelitian ini dihindari dengan pertimbangan bahwa metanol bersifat toksik sedangkan etanol relatif lebih aman.

Tabel 1. Karakteristik ekstrak antioksidan buah andaliman

Ekstraksi	Pelarut	Nama Ekstrak	Karakteristik
Tunggal	Etanol	Ekstrak Etanol	Bentuk : cair Warna : hijau Bau : khas andaliman (++) Fase pada suhu 6°C: cair Rendemen : 13.03 % (bk)
Bertingkat	1. Heksana	Ekstrak Heksana	Bentuk : cair Warna : hijau Bau : khas andaliman, lebih kuat (+++) Fase pada suhu 6°C: sebagian cair dan sebagian padat Rendemen : 4.10 % (bk)
	2. Heksana – Etanol *	Ekstrak Heksana – Etanol	Bentuk : cair Warna : kuning muda Bau : minyak (+) Fase pada suhu 6°C: cair Rendemen : 7.64 % (bk)

*Residu ekstrak heksana diekstrak kembali dengan etanol

Uji kualitatif golongan senyawa fenolik

Uji kualitatif golongan senyawa fenolik dilakukan dengan uji warna yang meliputi uji flavonoid, tanin dan polifenol terhadap ketiga jenis ekstrak antioksidan andaliman. Uji polifenol merupakan uji yang lebih umum karena flavonoid termasuk juga golongan polifenol. Hasil uji kualitatif antioksidan ekstrak etanol andaliman dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji kualitatif (reaksi warna) ekstrak antioksidan andaliman

Jenis Ekstrak	Jenis Uji	Hasil
Ekstrak Etanol	1. Tanin	-
	2. Polifenol	+
	3. Flavonoid	+
Ekstrak Heksana	1. Tanin	-
	2. Polifenol	-
	3. Flavonoid	-
Ekstrak Heksana – Etanol	1. Tanin	-
	2. Polifenol	+
	3. Flavonoid	+

Keterangan : (- : tidak mengandung senyawa dimaksud)
(+ : mengandung senyawa dimaksud)

Pengamatan pada Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan ekstrak heksana-etanol mengandung senyawa polifenol dan flavonoid yang bersifat relatif polar dan diduga berperan aktif sebagai antioksidan. Sebagai antioksidan, flavonoid memiliki kemampuan sebagai penangkap radikal bebas dan pengkompleks ion logam (Robinson, 1991).

Adanya flavonoid pada ekstrak andaliman ini juga dinyatakan dalam Gernot Katzer's (2001) bahwa fraksi non volatil dari genus *Zanthoxylum* diidentifikasi mengandung senyawa flavonoid, terpen alkaloid, *pyranoquinoline* alkaloid, *quaternary isoquinoline* alkaloid, *aporphyrine* alkaloid dan beberapa jenis lignan.

Selain golongan flavonoid, lignan adalah senyawa yang diduga berperan sebagai antioksidan pada fraksi non volatil ekstrak andaliman. Menurut Robinson (1991) beberapa jenis lignan sudah digunakan secara komersil sebagai antioksidan dalam makanan.

Aktivitas antioksidan ekstrak andaliman dalam sistem pangan

Sistem *aquaeous*

Aktivitas antioksidan dari ekstrak andaliman diuji dengan metode sistem model β-karoten/linoleat. Prinsip uji aktivitas antioksidan dengan metode ini adalah sejauh mana proteksi antioksidan yang diuji terhadap oksidasi asam linoleat dan β-karoten akibat pengaruh oksidasi oleh air yang jenuh dengan oksigen dan pemanasan. Hasil uji aktivitas aktioksidan ekstrak andaliman dengan metode ini dicantumkan pada Gambar 1.

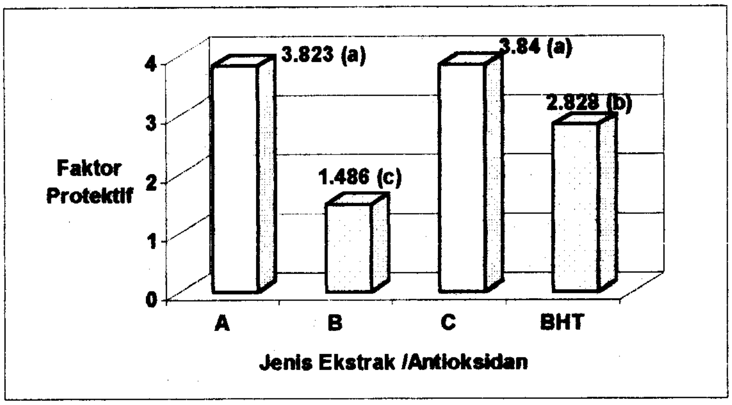
Pada sistem *aqueous* ekstrak etanol dan ekstrak heksana-etanol memiliki nilai Faktor Protektif yang hampir sama tetapi lebih tinggi dari BHT. Mengingat ekstrak etanol dan ekstrak heksana-etanol sama-sama mengandung senyawa golongan flavonoid maka sesuai dengan hasil lpenelitian Ikehata dan kawan-kawan yang diacu oleh Hammerschmidt dan Pratt (1978) bahwa flavonoid potensial sebagai antioksidan pada system *aqueous* tetapi kurang efektif mencegah autooksidasi pada minyak kedelai.

Menurut Pratt (1992) banyak flavonoid dan senyawa yang berhubungan, memiliki sifat antioksidan yang kuat dalam pangan sistem lipid-*aqueous* dan sistem lemak. Namun flavon, flavonol, flavonon, flavanonals dan turunan asam sinamat tertentu, memiliki kelarutan yang rendah dalam lemak yang sering dianggap suatu kelemahan. Walaupun demikian flavonoid yang tersuspensi dalam fase *aqueous* dari sistem lipid-*aqueous* menawarkan proteksi yang cukup besar terhadap oksidasi lipid.

Sistem emulsi

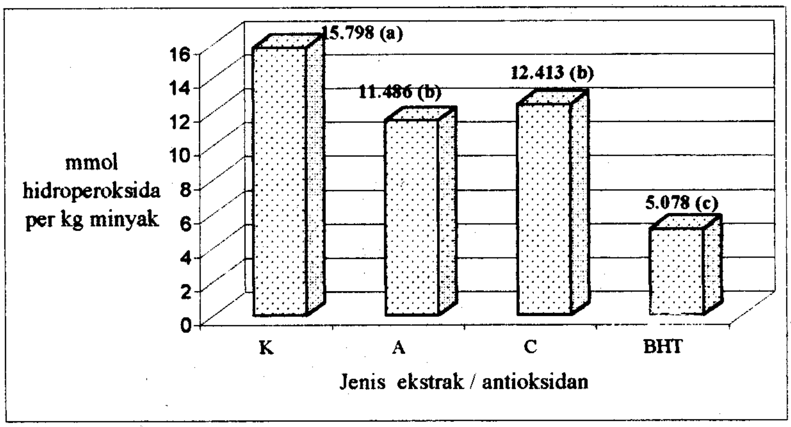
Pada sistem emulsi, aktivitas antioksidan diukur dengan metode diene terkonyugasi. Metode ini prinsipnya adalah mengukur hidroperoksida diene terkonyugasi yang terdapat dalam emulsi (o/w) 10 persen.

Hasil analisis diene terkonyugsi dinyatakan dalam mmol hidroperoksida per kg minyak. Hasil analisis diene terkonyugsi pada sistem emulsi minyak kedelai dapat dilihat pada Gambar 2.



Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama menyatakan tidak berbeda nyata menurut Uji Beda Nyata Jujur pada taraf α 0.05.
A = ekstrak etanol
B = ekstrak heksana
C = ekstrak heksana – etanol

Gambar 1. Aktivitas antioksidan ekstrak andaliman pada sistem *aqueous*



Keterangan : angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji Beda Nyata Jujur pada taraf α 0.05.
A = ekstrak etanol
C = ekstrak heksana – etanol
K = kontrol

Gambar 2. Aktivitas antioksidan ekstrak andaliman dalam sistem emulsi.

Dari hasil analisis diene terkonyugasi dapat dilihat bahwa konsentrasi hidroperoksida terendah ditunjukkan oleh BHT. Artinya aktivitas BHT dalam sistem emulsi lebih baik dibandingkan ekstrak etanol dan ekstrak heksana-etanol, sedangkan kandungan hidroperoksida ekstrak etanol dan ekstrak heksana-etanol relatif hampir sama. Sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 2 bahwa dari hasil uji Beda Nyata Jujur ternyata aktivitas ekstrak etanol dan ekstrak heksana-etanol tidak berbeda nyata secara statistik pada taraf α 0.05. Kenyatan ini memperkuat dugaan bahwa ekstrak etanol dan ekstrak heksana-etanol memiliki komponen aktif antioksidan yang relatif sama.

Namun demikian aktivitas ekstrak etanol dan ekstrak heksana-etanol lebih rendah dari BHT. Hal ini menunjukkan bahwa sistem uji mempengaruhi aktivitas antioksidan. Kemungkinan BHT lebih non polar dibandingkan ekstrak etanol dan ekstrak heksana-etanol sehingga kelarutannya lebih baik dalam minyak yang menjadi komponen pembentuk emulsi medium uji. Menurut Pratt (1992) senyawa golongan flavonoid tertentu kelarutannya rendah dalam lemak yang sering dianggap suatu kelemahan dan merupakan kelemahan yang serius jika fase *aqueous* juga terdapat dalam sistem tersebut.

Konsentrasi antioksidan yang terdapat pada antar permukaan minyak-air turut pula mempengaruhi efektivitas antioksidan. Menurut Huang et al., (1996b) aktivitas antioksidan dalam sistem emulsi melibatkan afinitas antioksidan pada antar permukaan minyak-air. Semakin tinggi konsentrasi antioksidan pada antar permukaan minyak-air maka aktivitasnya melindungi minyak terhadap oksidasi akan menjadi lebih baik. Partisi yang lebih tinggi pada fase air menyebabkan aktivitas antioksidan rendah pada sistem emulsi.

Disamping itu perbedaan substrat lipid turut mempengaruhi aktivitas antioksidan (Huang et al., 1996b). Pada metode β-karoten/linoleat, substrat lipid adalah asam lemak (asam linoleat), sedangkan pada metode diene terkonyugasi menggunakan trigliserida (minyak kedelai murni). Tergantung pada pH, asam lemak dalam sistem *aqueous* akan terdisosiasi membentuk anion asam lemak yang secara parsial larut dalam air dan membentuk misel, sebaliknya trigliserida tidak larut dalam air dan hanya terdispersi sebagai partikel emulsi.

Sistem minyak

Pada sistem minyak, aktivitas antioksidan diuji menggunakan alat Rancimat dengan medium minyak kedelai murni. Prinsip uji ini adalah proses oksidasi yang dipercepat dengan adanya aliran udara dan panas (suhu 100°C). Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan waktu induksi. Hasil uji dengan Rancimat yang ditunjukan dengan waktu induksi (jam) dapat dilihat pada Gambar 3.

dilihat pada Tabel 3.

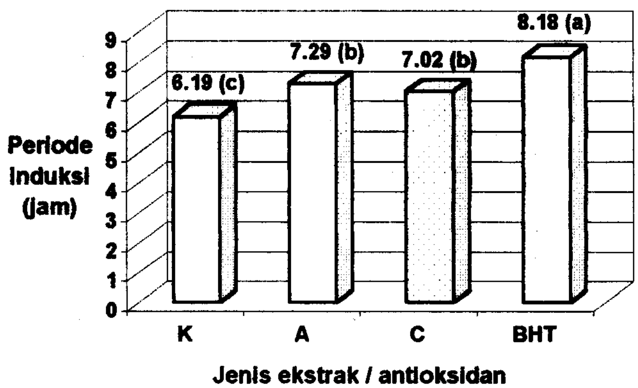
Tabel 3. Efisiensi antioksidan ekstrak andaliman

Jenis Antioksidan (200 ppm)	Efisiensi Antioksidan
Ekstrak etanol	1.18 (a)
Ekstrak heksana-etanol	1.13 (a)
BHT	1.32 (b)

Keterangan : angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji Beda Nyata Jujur pada taraf α 0.05.

Efisiensi antioksidan ekstrak andaliman ini masih lebih tinggi bila dibandingkan dengan hasil penelitian Fleury et al., (1992) pada isoflavon yang diisolasi dari kedelai. Efisiensi isoflavon tersebut 500 ppm yang diuji dengan Rancimat suhu 100°C menunjukan hasil rata-rata 1.06.

Periode induksi BHT ternyata lebih tinggi dari ekstrak etanol dan ekstrak heksana-etanol (berbeda nyata).



Keterangan : angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji Beda Nyata Jujur pada taraf α 0.05.
A = ekstrak etanol
C = ekstrak heksana – etanol
K = kontrol

Gambar 3. Aktivitas antioksidan ekstrak andaliman dalam sistem minyak

Hasil uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan alat Rancimat juga menunjukkan hasil yang relatif sama dengan uji diene terkonyugasi. Ekstrak etanol, ekstrak heksana-etanol dan BHT berturut-turut meningkatkan periode induksi sebesar 17 %, 13 % dan 32 %.

Efisiensi antioksidan dapat pula dinyatakan sebagai perbandingan waktu induksi minyak yang mengandung antioksidan dengan waktu induksi minyak tanpa antioksidan (nilai A/K, nilai C/K, nilai BHT/K) seperti dapat

Kurangnya aktivitas ekstrak andaliman dibandingkan BHT dalam sistem minyak diduga karena kelarutannya yang lebih kecil dalam minyak. Kenyataan tersebut juga seperti yang terjadi pada penelitian Shimoni et al., (1994) yang membandingkan aktivitas antioksidan deferoxamine dengan BHA dalam sistem minyak dan emulsi dengan sistem *aqueous*

Namun menurut Pratt (1992) antioksidan polifenolik yang sedikit larut dalam sistem lipid dapat ditingkatkan kelarutannya dengan alkilasi atau esterifikasi dengan asam lemak rantai panjang atau alkohol.

Kestabilan aktivitas antioksidan terhadap panas

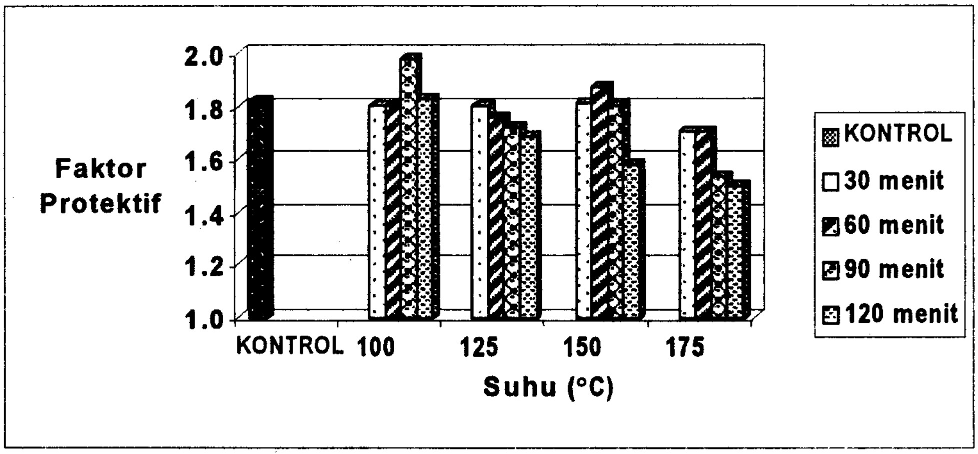
Ketahanan panas merupakan syarat yang penting bila antioksidan akan digunakan pada pangan karena kebanyakan penggunaan minyak/lemak pada pengolahan pangan membutuhkan suhu tinggi seperti pemanggangan dan penggorengan.

Hasil rata-rata faktor protektif ekstrak etanol akibat pengaruh suhu dan lama pemanasan dapat dilihat pada Gambar 4.

120 menit, faktor protektif mengalami penurunan sekitar 13.6 persen.

Hasil analisis regresi ekstrak heksana-etanol dapat dilihat pada Gambar 7. Jika dilihat dari kemiringan garis regresi/slope, laju penurunan faktor protektif paling besar terjadi pada suhu 150°C diikuti oleh suhu 175°C.

Sedangkan pemanasan pada suhu 100° C dan 125°C, laju penurunan faktor protektif relatif kecil. Dengan adanya perpotongan pada garis regresi, hal tersebut menunjukkan bahwa antar perlakuan yaitu suhu dan lama pemanasan terjadi interaksi.



Gambar 4. Hasil uji ketahanan panas ekstrak etanol

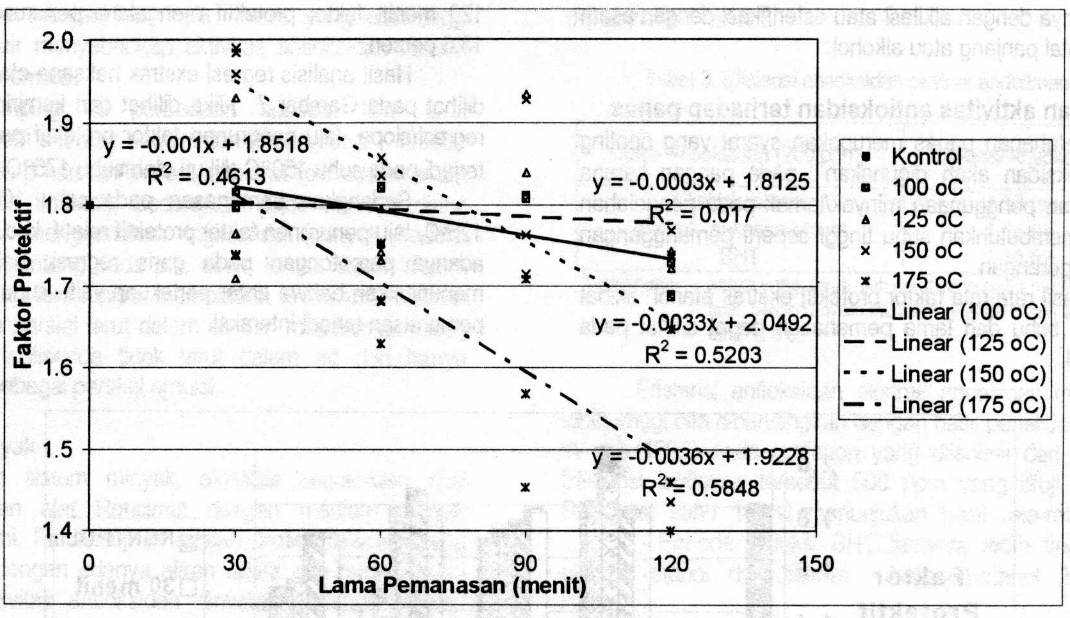
Penurunan faktor protektif rata-rata antara tanpa pemanasan dengan pemanasan 120 menit pada suhu 175°C relatif tidak begitu besar yaitu kira-kira 17 persen.

Setelah dilakukan analisis regresi seperti terlihat pada Gambar 5, ternyata laju penurunan faktor protektif paling besar terjadi pada suhu pemanasan 175°C, diikuti oleh suhu 150°C yang ditunjukkan oleh kemiringan garis (slope) paling besar.

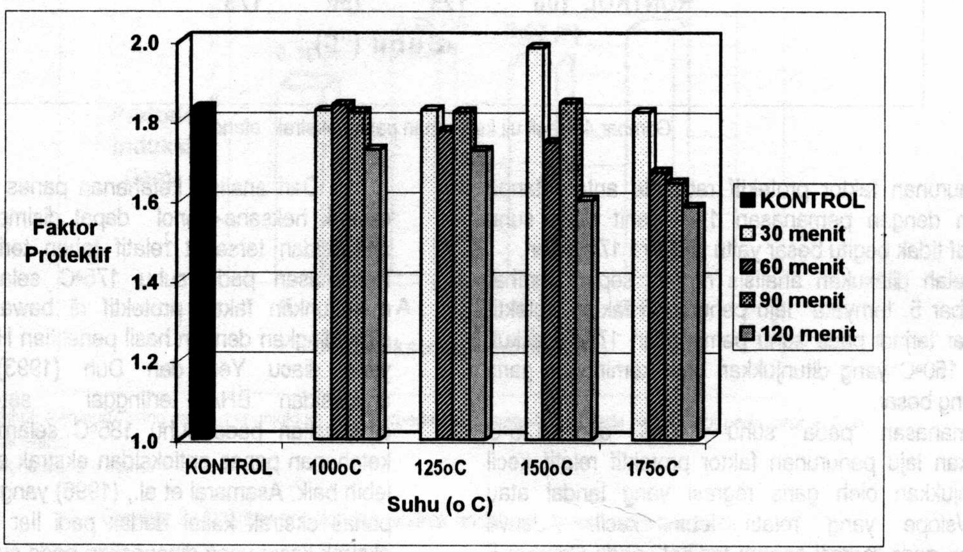
Pemanasan pada suhu 100°C dan 125°C menghasilkan laju penurunan faktor protektif relatif kecil yang ditunjukkan oleh garis regresi yang landai atau kemiringan/slope yang relatif lebih kecil. Adanya perpotongan garis regresi seperti terlihat pada Gambar 5 menunjukkan terjadinya interaksi antara perlakuan suhu dan lama pemanasan.

Hasil rata-rata faktor protektif dari uji ketahanan panas ekstrak heksana-etanol dapat dilihat pada Gambar 6. Sebagaimana ekstrak etanol, hasil rata–rata penurunan faktor protektif ekstrak heksana-etanol relatif tidak begitu besar bahkan hampir sama dengan ekstrak etanol. Jika dibandingkan faktor protektif sampel tanpa pemanasan dengan perlakuan pemanasan pada suhu 175°C selama

Dari analisis ketahanan panas ekstrak etanol dan ekstrak heksana-etanol dapat disimpulkan bahwa jenis antioksidan tersebut relatif tahan terhadap pemanasan. Pemanasan pada suhu 175°C selama 2 jam hanya menurunkan faktor protektif di bawah 20 persen. Bila dibandingkan dengan hasil penelitian Hamama dan Nawar yang diacu Yen dan Duh (1993) bahwa aktivitas antioksidan BHA tertinggal setengahnya setelah dipanaskan pada suhu 185°C selama 45 menit maka ketahanan panas antioksidan ekstrak andaliman dianggap lebih baik. Asamarai et al., (1996) yang meneliti ketahanan panas ekstrak kasar dedak padi liar melaporkan bahwa ekstrak kasar yang dipanaskan pada suhu 60°C dan 100°C tidak menunjukkan perbedaan aktivitas antioksidan yang nyata dengan perlakuan tanpa pemanasan. Asmarai et al., (1996) menyimpulkan ekstrak tersebut bersifat tahan panas. Merujuk pada kesimpulan tersebut maka ekstrak antioksidan andaliman dapat pula dianggap stabil terhadap pemanasan.



Gambar 5. Analisis regresi hasil uji ketahanan panas ekstrak etanol.

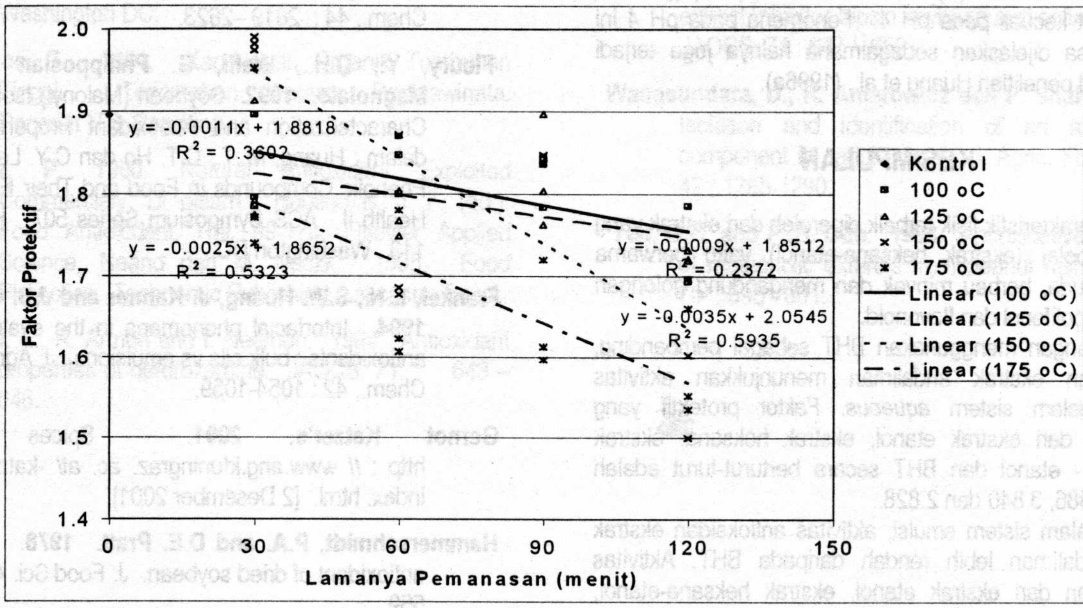


Gambar 6. Hasil uji ketahanan panas ekstrak heksana – etanol.

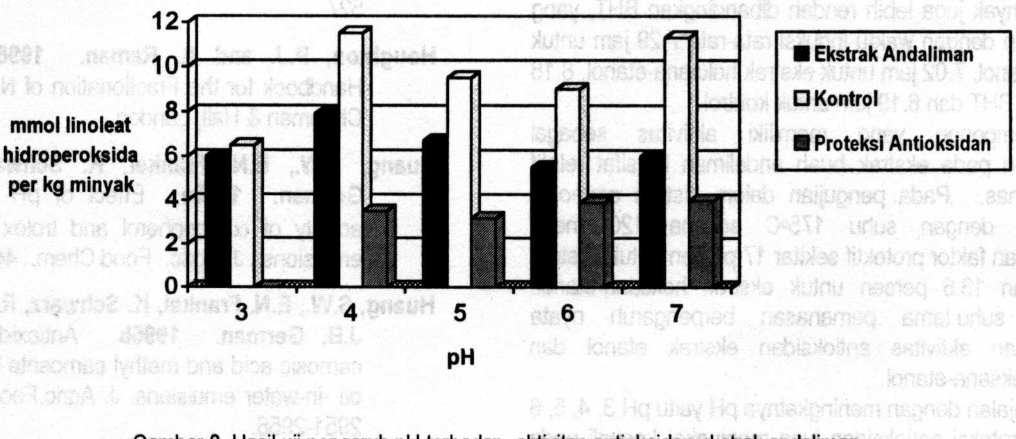
Kestabilan aktivitas antioksidan andaliman terhadap pH

Kestabilan aktivitas antioksidan terhadap pH diuji pada sistem emulsi dengan menggunakan metode hidroperoksida diene terkonyugasi. Dari nilai absorbansi dapat diketahui jumlah atau mmol hidroperoksida per kg minyak. Pengaruh pH terhadap aktivitas antioksidan ekstrak andaliman dapat dilihat pada Gambar 8.

Antioksidan dari kelompok senyawa fenolik berfungsi sebagai donor hidrogen yang akan menstabilkan senyawa radikal (Shahidi dan Naczk, 1995). Pada pH rendah densitas ion hidrogen dalam medium meningkat sehingga menekan pelepasan ion hidrogen dari senyawa fenolik.



Gambar 7. Hasil analisis regresi uji ketahanan panas ekstrak heksana – etanol



Gambar 8. Hasil uji pengaruh pH terhadap aktivitas antioksidan ekstrak andaliman

Jadi ion hidrogen dalam medium sudah berfungsi sebagai donor untuk menstabilkan radikal. Hal ini terlihat pada pH 3 bahwa tanpa antioksidanpun, jumlah hidroperoksida yang terbentuk rendah.

Pandangan yang lain dikemukan oleh Hasenhuettl dan Wan (1992) bahwa asam dapat mengkatalis dekomposisi peroksida sehingga pada emulsi dengan tingkat keasaman yang tinggi, peroksida yang terdeteksi rendah.

Disamping itu pada pH rendah konsentrasi ion fosfat juga tinggi. Diketahui bahwa asam fosfat berfungsi sebagai pengkelat logam yang dapat menginisiasi reaksi oksidasi (Kikugawa et al., 1990 ;Chen et al., 1996). Akibatnya tingkat oksidasi pada pH rendah juga dapat ditekan. Hal yang sama juga dibuktikan oleh Huang et al., (1996a) bahwa tingkat oksidasi emulsi dengan bufer fosfat lebih rendah bila dibandingkan dengan emulsi tanpa bufer pada pH yang sama.

Dengan meningkatnya pH maka konsentrasi ion hidrogen dalam medium menurun sehingga mulai terjadi pelepasan ion hidrogen oleh senyawa fenolik (antioksidan) dimana makin meningkat pH proteksi antioksidan (absorbansi kontrol (K) – absorbansi sampel (A)) makin meningkat kecuali pada pH 4. Fenomena pada pH 4 ini belum bisa dijelaskan sebagaimana halnya juga terjadi pada hasil penelitian Huang et al., (1996a).

KESIMPULAN

Karakteristik fisik terbaik diperoleh dari ekstrak yang bersifat polar (ekstrak heksana-etanol) yaitu berwarna kuning muda, berbau minyak dan mengandung golongan senyawa polifenol dan flavonoid.

Dengan menggunakan BHT sebagai pembanding, antioksidan ekstrak andaliman menunjukkan aktivitas terbaik dalam sistem *aqueous*. Faktor protektif yang diperoleh dari ekstrak etanol, ekstrak heksana, ekstrak heksana - etanol dan BHT secara berturut-turut adalah 3.823, 1.486, 3.840 dan 2.828.

Dalam sistem emulsi, aktivitas antioksidan ekstrak buah andaliman lebih rendah daripada BHT. Aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol, ekstrak heksana-etanol, BHT dan kontrol masing-masing adalah 11.486, 12.413, 5.078 dan 15.798 mmol hidroperoksida diene terkonyugasi per kg minyak.

Aktivitas antioksidan ekstrak buah andaliman dalam sistem minyak juga lebih rendah dibandingkan BHT, yang ditunjukkan dengan waktu induksi rata-rata 7.29 jam untuk ekstrak etanol, 7.02 jam untuk ekstrak heksana-etanol, 8.18 jam untuk BHT dan 6.19 jam untuk kontrol.

Komponen yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan pada ekstrak buah andaliman bersifat relatif tahan panas. Pada pengujian dalam sistem *aqueous*, perlakuan dengan suhu 175°C selama 120 menit menurunkan faktor protektif sekitar 17 persen untuk ekstrak etanol dan 13.6 persen untuk ekstrak heksana-etanol. Interaksi suhu-lama pemanasan berpengaruh nyata menurunkan aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan ekstrak heksana-etanol.

Sejalan dengan meningkatnya pH yaitu pH 3, 4, 5, 6 dan 7, proteksi antioksidan juga meningkat kecuali pada pH 4. Pada pH rendah yaitu pH 3, perlakuan tanpa antioksidan menghasilkan jumlah hidroperoksida yang relatif hampir sama dengan perlakuan dengan antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

Asamarai, A.M., P.B. Addis, R.J. Epley and T.P. Krick. 1996. Wild rice hull antioxidants. J. Agric Food Chem. 44 : 126-130.

Chen, H.M., K. Muramoto, F. Yamauchi. and K. Nokihara. 1996. Antioxidant activity of designed peptides based on the antioxidative peptide isolated from digests of a soybean protein. J. Agric. Food Chem., 44 : 2619 –2623.

Fleury, Y., D.H.., Welti, G. Philipposian and D. Magnolato. 1992. Soybean (Malonyl) Isoflavones, Characterization and Antioxidant Properties. Di dalam : Huang, M..T., C.T. Ho dan C.Y. Lee (eds.). Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II. ACS Symposium Series 507. Hal. 98 – 113. Washington DC.

Frankel, E.N., S.W. Huang, J. Kanner and J.B. German. 1994. Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants : bulk oils vs emulsions. J. Agric. Food Chem., 42 : 1054-1059.

Gernot Katzer's. 2001. Spices Pages. http : // www.ang.kfuningraz. ac. at/ -katzer/engl / index. html. [2 Desember 2001].

Hammerschmidt, P.A. and D.E. Pratt. 1978. Phenolic antioxidant of dried soybean. J. Food Sci. 43 : 556 - 559.

Hasenhuettl, G.L and P.J. Wan. 1992. Temperature effects on the determination of oxidative stability with the Methrom Rancimat. JAOCS 69 : 525 – 527.

Houghton, P.J. and A. Raman. 1998. Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts. Chapman & Hall, London.

Huang, S.W., E.N. Frankel, K. Schwarz, and J.B. German. 1996a. Effect of pH on antioxidant activity of α-tocopherol and trolox in oil-in-water emulsions. J. Agric. Food Chem. 44, 2496 – 2502.

Huang, S.W., E.N. Frankel, K. Schwarz, R. Aesbach and J.B. German. 1996b. Antioxidant activity of carnosic acid and methyl carnosate in bulk oils and oil -in-water emulsions. J. Agric.Food Chem . 44 : 2951-2956.

Kikugawa, A K. A. Kurechi, T. Kunugi. 1990. Chemistry and Implication of Degradation of Phenolic Antioxidant. Di dalam :Hudson B. J. F. (ed.). Food Antioxidant. Hal. 65-98. Elsevier Applied Science, New York.

Parhusip, A.J.N., P. Sibuea dan A. Tarigan. 1999. Studi Tentang Aktivitas Antimikroba Alami pada Andaliman. Seminar Nasional Teknologi Pangan. Jakarta, 12 – 13 Oktober 1999.

Pratt, D.E. 1992. Natural Antioxidants from Plant Material. Di dalam : Huang. M.T., C.T. Ho dan C.Y. Lee (eds.). Phenolic Compounds inhibitor tripsin Food and Their Effects on Health II. Hal : 54 – 71. ACS, Washington DC.

Robinson, T. 1991. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB, Bandung.

Schuler, P. 1990. Natural Antioxidant Exploited Commercialy. Di dalam : Hudson B. J. F. (ed.). Food Antioxidant. Hal. 99-170. Elsevier Applied Science, Neand dan M. Naczk. 1995. Food Phenolics. Technomic Publishing, Lancaster Basel.

Shimoni, E., R. Armon and I. Neeman. 1994. Antioxidant properties of deferoxamine. JAOCS. 71: 643 – 646.

Tian, L.L. dan P.J. White. 1994. Antioxidant activity of oat extract inhibitor tripsin soybean and cottonseed oils. JAOCS. 71 : 647 – 652.

Wanasundara, U., R. Amarowicz dan F. Shahidi. 1994. Isolation and identification of an antioxidative component in canola meal. J. Agric. Food Chem.. 42 : 1285-1290.

Yen, G.C. and P..D. Duh. 1993. Antioxidative properties of methanolic extarcts from peanut hulls. JA.OCS. 70 : 598 - 601.