

Analisis Senyawa Aktif Trigeminal Andaliman dengan Variasi Metode Pengeringan dengan Pendekatan GC-MS

[Analysis of Trigeminal Active Compounds from Various Dried Andaliman with GC-MS Approach]

Sigit Suharta¹⁾, Dase Hunaefi¹⁾, Christofora Hanny Wijaya^{1)*}, dan Yasuyuki Hashidoko²⁾

¹⁾ Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pangan, IPB University, Bogor, Indonesia

²⁾ Department of Applied Biosciences, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Japan

Diterima 10 April 2022 / Disetujui 21 Juni 2022

ABSTRACT

*Sanshool compounds are the trigeminal active compounds in andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) with a numbing and tingling sensation. The analysis of such compounds is usually done through HPLC approach; however, limited studies have reported that the analysis of such compounds could be conducted with Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). This method could save research time and funding by analyzing both sanshools and volatiles simultaneously, which would describe the complete profile of andaliman flavor compounds. This study aimed to confirm the potency of GC-MS in analyzing sanshool compounds and to utilize this method in studying the impact of different drying methods towards andaliman trigeminal active compounds. Andaliman was dried with five drying methods (sun, sunshade, air, oven, and freeze-drying) and was macerated with chloroform, concentrated, and analyzed with GC-MS. The results of this study showed that GC-MS was able to analyze sanshool compounds efficiently. Drying had no statistically significant impact on sanshool quantities extracted from andaliman. Fresh andaliman contained 0.69 % (dry weight basis) of α -sanshool, the main sanshool in andaliman. On the other hand, dried andaliman contained 0.80-1.08% of α -sanshool (dry weight basis). As oven drying managed to produce andaliman with a similar concentration of α -sanshool at a faster time and more affordable cost than other drying methods, oven drying was suggested as the ideal drying method to extend the shelf life of andaliman.*

Keywords: andaliman, drying, GC-MS, sanshool, trigeminal

ABSTRAK

Komponen *sanshool* merupakan senyawa aktif trigeminal pada andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) yang memberikan sensasi bergetar dan kebas pada rongga mulut. Selama ini analisis keberadaan senyawa umumnya dilakukan dengan pendekatan HPLC. Akhir-akhir ini beberapa penelitian melaporkan bahwa analisis komponen *sanshool* dapat dilakukan dengan *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS), suatu metode yang menghemat waktu dan biaya karena dapat menganalisis komponen *sanshool* dan volatil bersamaan dan akan menggambarkan profil senyawa pembentuk cita rasa andaliman secara utuh. Penelitian bertujuan untuk mengonfirmasi kemungkinan penggunaan GC-MS dalam menganalisis komponen *sanshool*. Selanjutnya metode ini digunakan untuk mengetahui perubahan konsentrasi komponen aktif trigeminal andaliman kering dengan berbagai pengeringan. Andaliman segar dikeringkan dengan lima metode pengeringan (matahari, paranet, angin, oven, dan *freeze drying*). kemudian dimaserasi dengan kloroform, dikonsentrasikan, dan dianalisis dengan GC-MS. Penelitian ini menunjukkan GC-MS dapat menganalisis komponen *sanshool* dengan baik. Pengeringan tidak memberikan pengaruh yang signifikan secara statistik terhadap kuantitas komponen *sanshool* yang terekstrak dari andaliman. Konsentrasi α -*sanshool* (komponen *sanshool* yang utama pada andaliman) sebanyak 0,69% (basis kering) ditemukan pada andaliman segar dan sebanyak 0,80-1,08% (basis kering) pada andaliman kering. Karena pengeringan oven menghasilkan andaliman dengan konsentrasi *sanshool* yang serupa dalam waktu yang lebih cepat dan dengan biaya lebih terjangkau dibandingkan dengan pengeringan lainnya, maka pengeringan oven disarankan sebagai metode pengeringan yang potensial untuk memperpanjang umur simpan andaliman.

Kata kunci: andaliman, GC-MS, pengeringan, *sanshool*, trigeminal

*Penulis Korespondensi: E-mail: channywijaya@apps.ipb.ac.id

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki banyak sekali pangan lokal yang memiliki cita rasa yang unik, salah satunya adalah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) yang memiliki aroma citrus yang kuat serta sensasi trigeminal yang unik, yaitu sensasi bergetar dan kebas pada rongga mulut dan lidah ketika dikonsumsi (Wijaya *et al.*, 2018). Sensasi trigeminal tersebut diduga merupakan alasan utama kepopuleran andaliman di daerah asalnya, Sumatra Utara. Sensasi trigeminal andaliman disebabkan oleh kandungan alkilamida tidak jenuh yang lebih dikenal sebagai *sanshool* (Wijaya, 2000). Selain memberikan sensasi trigeminal yang unik ketika dikonsumsi, *sanshool* juga dilaporkan dapat memberikan efek fisiologis aktif seperti melindungi kulit dari kerusakan oleh radiasi ultraviolet (Hao *et al.*, 2019), mencegah obesitas dan mengurangi lemak (Wang *et al.*, 2019), mencegah kerusakan sel dari reaksi oksidatif (Li *et al.*, 2020), mencegah penurunan fungsi kognitif (Zhang *et al.*, 2019), serta memiliki potensial sebagai bahan *anti-aging* dalam kosmetik (Kim *et al.*, 2021; Zeng *et al.*, 2019) dan terapi penyakit Alzheimer (Li *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2022).

Komponen *sanshool* memiliki banyak isomer yang berhasil teridentifikasi (Jie *et al.*, 2019). Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa komponen *sanshool* yang utama pada andaliman adalah α -*sanshool* (2E, 6Z, 8E, 10E-Z-(2'-metilpropil)-dodekateetraenamida) dengan berat molekul 247 dan rumus $C_{16}H_{25}ON$ (Wijaya, 2000). Lain halnya pada kerabat andaliman seperti lada Jepang (*Zanthoxylum piperitum*) atau lada Sichuan (*Zanthoxylum bungeanum*) (Sugai *et al.*, 2005b; Yang, 2008) yang lebih banyak mengandung senyawa isomernya yaitu hidroksi α -*sanshool*.

Andaliman hijau segar adalah bentuk yang paling banyak beredar di pasaran Indonesia, akan tetapi, andaliman segar memiliki umur simpan yang sangat pendek. Sekitar 10-14 hari setelah panen, buah andaliman akan busuk oleh kapang, warna buah berubah menjadi hitam, dan kehilangan cita rasanya yang unik (Wijaya *et al.*, 2018). Pengeringan merupakan salah satu teknik sederhana untuk memperpanjang umur simpan produk pangan yang memiliki kadar air yang tinggi seperti andaliman. Pengeringan juga dapat memperluas penyebaran dan penggunaan andaliman di berbagai tempat yang jauh dari lokasi budidaya dan mencegah degradasi mutu andaliman selama proses pengiriman.

Penelitian sebelumnya telah melaporkan perubahan intensitas sensori andaliman dengan berbagai teknik pengeringan (Napitupulu *et al.*, 2020). Metode pengeringan akan memengaruhi intensitas aroma dan trigeminal secara keseluruhan. Publikasi sebelumnya melaporkan terjadi perubahan konsentrasi dari komponen volatil dan profil aroma andali-

man oleh berbagai pengeringan (Suharta *et al.*, 2021). Napitupulu *et al.* (2020) melaporkan bahwa andaliman kering beku memiliki intensitas trigeminal yang paling tinggi diikuti oleh andaliman kering oven dan kering *far infrared*. Pengaruh pengeringan terhadap komponen volatil, profil sensori, dan karakteristik fisik dari andaliman sudah dilaporkan sebelumnya, namun belum ditemukan publikasi yang melaporkan perubahan kuantitas komponen *sanshool* pada andaliman yang dikeringkan dengan berbagai teknik pengeringan.

Analisis komponen *sanshool* umumnya dilakukan dengan cara ekstraksi oleh pelarut organik, seperti kloroform, lalu dilakukan pemisahan dan identifikasi dengan kromatografi kolom atau HPLC (*kromatografi cair kinerja tinggi*) (Sugai *et al.*, 2005b, Zhu *et al.*, 2019). Akan tetapi metode ini cenderung membutuhkan waktu yang lama dan memerlukan pelarut dalam jumlah yang banyak serta fase diam yang relatif mahal. Penelitian terdahulu melaporkan bahwa komponen *sanshool* dapat dianalisis dengan GC-MS atau *kromatografi gas-spektrometri massa* (Reyes-Trejo *et al.*, 2019). Analisis dengan pendekatan GC-MS dapat menghemat waktu dan biaya penelitian karena selain dapat memperoleh profil komponen rasa trigeminal, metode ini juga dapat menghasilkan profil senyawa volatil pembentuk aroma andaliman. Penelitian ini bertujuan untuk mengonfirmasi penggunaan dan menentukan parameter GC-MS yang dapat menganalisis komponen *sanshool* yang merupakan senyawa aktif trigeminal pada andaliman, serta mempelajari perubahan konsentrasinya pada andaliman kering yang dihasilkan dengan berbagai cara pengeringan. Penelitian ini diharapkan memperoleh data yang menunjukkan bahwa GC-MS dapat menganalisis komponen *sanshool* dan ditemukan perbedaan yang signifikan pengaruh berbagai metode pengeringan pada kandungan *sanshool* dari setiap sampel andaliman segar dan kering..

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah andaliman hijau segar varietas Simanuk yang diperoleh langsung dari petani di dusun Gotting Raya, Kecamatan Simalungun, Sumatra Utara. Buah andaliman hijau dipisahkan dari ranting dan kotoran lainnya, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering-anginkan selama dua jam. Pada tahap penentuan parameter GC-MS, andaliman hijau segar yang digunakan diperoleh dari Pasar Senen Jakarta, karena keterbatasan sampel andaliman dari petani di Sumatera Utara dan pertimbangan kemudahan memperoleh sampel. Bahan kimia yang digunakan adalah kloroform (Merck,

Darmstadt, Jerman), standar hidroksi α -sanshool dengan tingkat kemurnian >98% (Chengdu Biopurify Phytochemicals, Chengdu, Cina), standar internal 1,2,4-triklorobenzen (Sigma Aldrich, St. Louis, Amerika Serikat), kertas saring Whatman No 1, Na₂SO₄ anhidrat (Merck, Darmstadt, Jerman).

Pengeringan andaliman

Andaliman Segar (AS) dikeringkan dengan lima metode pengeringan (Suharta *et al.*, 2021). Pengeringan matahari (KM) dilakukan dengan menyebarkan 400 g andaliman segar pada dua loyang aluminium ukuran 25x45 cm secara merata dalam satu lapisan lalu dijemur di bawah sinar matahari langsung selama 54 jam dengan rentangan suhu 25-45°C, dan kelembapan relatif (RH) sekitar 21–77% pada bulan Juli–Agustus 2020 di Jakarta Barat (Napitupulu *et al.*, 2020 dengan modifikasi). Pengeringan matahari ini dilakukan di luar ruangan pada pukul 6 pagi hingga pukul 6 petang dan dilanjutkan di dalam ruangan pada pukul 6 petang hingga 6 pagi agar terhindar dari serangga, binatang, dan cuaca yang kurang baik pada malam hari. Pengukuran suhu dan RH dilakukan setiap 6 jam yaitu pada pukul 6 pagi, 12 siang, 6 sore, dan 12 malam.

Pengeringan matahari dengan jaring matahari atau paranet (KJM) yang dapat menghalau sinar sebanyak 55% dilakukan dengan metode, lokasi, dan durasi yang sama seperti pengeringan matahari, paranet dibentangkan sekitar 20 cm di atas buah andaliman segar menggunakan kerangka dari pipa PVC untuk memberikan sirkulasi udara selama proses pengeringan.

Pengeringan dengan angin (KA) dilakukan dengan menyebarkan 400 g buah andaliman pada dua loyang serupa di dalam ruangan redup yang dilengkapi dengan pendingin udara untuk menjaga suhu sekitar 20-25°C dan RH sekitar 42-47% (Chen *et al.*, 2012). Pengeringan dengan oven (KO) dilakukan dengan oven konveksi skala laboratorium (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Amerika Serikat) pada suhu 54°C selama 8 jam (Napitupulu *et al.*, 2020).

Pengeringan beku (KB) dilakukan dengan pengering beku skala laboratorium Alpha 1-2 LDplus (Martin Christ, Osterode, Jerman) pada suhu kondensor -50°C dan tekanan 0,040 mbar selama 41 jam. Metode pengeringan yang digunakan dalam penelitian ini sama seperti yang telah dilaporkan sebelumnya oleh Suharta *et al.* (2021). Semua sampel hasil pengeringan disimpan dalam kemasan aluminium kedap udara pada lemari es. Pengeringan dilakukan dengan dua ulangan untuk melihat fluktuasi kandungan sanshool dari dua waktu panen andaliman.

Ekstraksi

Ekstrak kloroform andaliman diperoleh dari maserasi 20 g andaliman segar yang sudah di-blender atau 5 g andaliman kering yang sudah dihaluskan hingga 40 mesh serta 200 μ L 1,2,4-triklorobenzen (pada konsentrasi 1 g/100 mL) sebagai standar internal dengan 100 mL kloroform selama satu malam di dalam lemari pendingin dengan dua kali proses maserasi (Sugai *et al.*, 2005b; Suharta *et al.*, 2021). Ekstrak andaliman selanjutnya disaring dengan kertas penyaring, lalu dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrat dan dikonsentrasikan hingga 10 mL menggunakan rotary evaporator (Buchi, Flawil, Switzerland) pada tekanan 332 mbar dan suhu 40°C hingga diperoleh tepat 10 mL konsentrat andaliman. Ekstraksi setiap ulangan dilakukan secara duplo. Setiap konsentrat disimpan di dalam tabung reaksi kaca dengan penutup ulir yang dilengkapi dengan lapisan teflon kemudian dibungkus aluminium foil dan disimpan di dalam lemari es.

Penetapan parameter GC-MS

Konfirmasi parameter GC-MS dilakukan dengan menyuntikan ekstrak kloroform andaliman dari Pasar Senen ke dalam GC-MS. Parameter GC-MS yang ideal untuk memisahkan seluruh senyawa pada ekstrak andaliman diperoleh dengan menyuntikan 1 μ L konsentrat andaliman pada GC-MS 7890A-5975C (Agilent Technologies, Santa Clara, Amerika Serikat) dengan kolom HP-5MS (30 m x 250 μ m x 0.25 μ m, Agilent Technologies), split-injection pada rasio 1:10 dan suhu inlet 250°C, helium sebagai fase gerak (1 mL/menit), suhu oven 40°C selama 4 menit dan dinaikkan hingga 280°C selama 4 menit dengan kecepatan kenaikan suhu yaitu 2°C/menit, serta suhu sumber ion 230°C, mode pemindaian massa 20 pemindaian/detik, dan rentang massa 45-550 m/z (Suharta *et al.*, 2021).

Identifikasi senyawa sanshool

Identifikasi senyawa sanshool mengacu pada Reyes-Trejo *et al.* (2019). Komponen sanshool memiliki banyak isomer yang sulit teridentifikasi secara pasti tanpa keberadaan standar komersial yang murni. Oleh karena itu, penentuan pengaruh pengeringan terhadap komponen sanshool andaliman diwakili pada dua isomer yang paling banyak ditemukan di andaliman dan spesies Zanthoxylum lainnya, yaitu α -sanshool (Wijaya, 2000; Wijaya *et al.*, 2018) dan hidroksi α -sanshool (Sugai *et al.*, 2005b; Yang, 2008). Karena tidak tersedianya standar α -sanshool secara komersial, maka identifikasi puncak α -sanshool dilakukan dengan mencocokkan spektra massa yang diperoleh terhadap spektra massa yang telah dilaporkan literatur (Reyes-Trejo *et al.*, 2019) serta mass spectral library Wiley

W8N08 (John Wiley and Sons, Inc., Amerika Serikat).

Identifikasi hidroksi α -sanshool dapat dilakukan dengan mencocokkan spektra massa dan waktu retensi dari standar hidroksi α -sanshool yang sudah diencerkan hingga 0,2% w/v dan disuntikan ke dalam GC-MS dengan parameter yang sama. Penyuntikan standar hidroksi α -sanshool ini untuk mengonfirmasi parameter GC-MS yang digunakan pada penelitian ini dapat menganalisis komponen *sanshool*. Optimasi parameter GC-MS menggunakan andaliman dari Pasar Senen karena terbatasnya sampel uji andaliman yang diperoleh dari petani di Sumatera Utara. Namun varietas andaliman dari Pasar Senen tidak diketahui.

Prediksi konsentrasi komponen *sanshool* dihitung dengan membandingkan luas area masing-masing komponen dengan luas area standar internal 1% w/v (1,2,4-triklorobenzen) yang ditambahkan ketika maserasi, berdasarkan persamaan perhitungan konsentrasi komponen target berikut dan konsentrasi dilaporkan dalam basis kering guna menghilangkan pengaruh kadar air antar sampel yang berbeda-beda, dengan memasukkan parameter A= konsentrasi komponen target ($\mu\text{g/g}$ material); B= komponen target; C= volume standar internal (mL); D= berat material (g); E= konsentrasi standar internal (g/mL) pada rumus berikut:

$$[A] = \frac{\text{luas area B}}{\text{luas area SI}} \times \frac{\text{C mL SI}}{\text{D g material}} \times E \frac{\text{g}}{\text{mL}} \times 10^6 \frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \dots (1)$$

Analisis statistik

Hasil analisis perhitungan komponen *sanshool* dari setiap ulangan pengeringan dianalisis secara statistik menggunakan analisis ragam satu arah (ANOVA) dengan perangkat lunak SPSS Statistics v. 25 (IBM, Armonk, NY, Amerika Serikat).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kromatogram komponen *sanshool*

Kromatogram hasil analisis GC-MS dengan parameter yang telah dioptimasi dapat dilihat pada Gambar 1. Kromatogram yang diperoleh menunjukkan bahwa metode ini dapat menganalisis berbagai komponen volatil dan juga komponen-komponen yang diduga merupakan senyawa *sanshool* beserta isomernya. Peningkatan suhu oven GC-MS yang lambat ($2^\circ\text{C}/\text{menit}$) perlu dilakukan untuk memisahkan beberapa komponen yang bertumpuk seperti geranil asetat dan metil sinamat. Waktu analisis dapat diperpendek dengan menurunkan suhu maksimum oven hingga 250°C karena di atas suhu tersebut tidak ada komponen terdeteksi yang berpengaruh secara sensori. *Split ratio* yang tinggi (1:10) diperlukan untuk

meningkatkan ketinggian puncak-puncak komponen karena berdasarkan penelitian sebelumnya, penggunaan *split ratio* rendah seperti 1:100 menyebabkan banyak komponen yang sulit untuk dideteksi dengan akurat oleh perangkat lunak karena puncaknya yang sangat pendek.

Puncak α -sanshool diprediksi berada di puncak yang tinggi pada waktu retensi sekitar 84 menit karena memiliki spektra massa yang mirip dengan yang dilaporkan sebelumnya (Reyes-Trejo *et al.*, 2019) serta memiliki ion molekul 247 yang cocok dengan berat molekul dari α -sanshool (rumus molekul $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}$). Walaupun ada beberapa puncak kecil lain yang memiliki ion molekul yang sama, puncak yang tinggi pada menit ke-84 tersebut diprediksi sebagai α -sanshool sesuai dengan laporan terdahulu bahwa senyawa ini merupakan senyawa *sanshool* yang paling banyak ditemukan pada andaliman (Wijaya, 2000; Wijaya *et al.*, 2018). Selain itu, puncak hidroksi α -sanshool diprediksi berada pada waktu retensi sekitar 89 menit, sama dengan waktu retensi puncak standar hidroksi α -sanshool seperti yang terlihat pada Gambar 2. Andaliman diprediksi juga mengandung isomer-isomer *sanshool* lainnya karena menurut kromatogram GC-MS yang diperoleh, banyak puncak-puncak kecil di sekitar α -sanshool dan hidroksi α -sanshool. Akan tetapi, puncak-puncak ini tidak dapat teridentifikasi tanpa menggunakan standar murni atau metode analisis lain seperti Resonansi Magnet Inti (NMR) jenis $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ (Wu *et al.* 2020).

Injeksi standar hidroksi α -sanshool mengonfirmasi prediksi puncak hidroksi α -sanshool pada waktu retensi sekitar 89 menit seperti terlihat pada Gambar 2. Spektra massa dari puncak standar hidroksi α -sanshool menunjukkan ion molekul dengan nilai 263 yang cocok dengan berat molekul dari komponen tersebut karena memiliki rumus molekul $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_2$. Puncak tersebut memiliki persentase luas area sebesar 96,5%.

Komponen *sanshool* mungkin mengalami isomerisasi selama proses ekstraksi, konsentrasi, dan analisis karena gugus triena terkonjugasi yang dimiliki oleh komponen *sanshool* tersebut (Luo *et al.*, 2022; Yang, 2008). Akan tetapi, hasil analisis (Gambar 2) terhadap standar yang memiliki kemurnian 98% menunjukkan walau metode GC-MS menggunakan suhu tinggi ketika injeksi dan saat pemisahan, tidak ada fenomena isomerisasi komponen *sanshool* secara substansial. Perlu dilakukan validasi lebih lanjut dan dibandingkan dengan metode yang sudah banyak digunakan seperti HPLC agar keakuratan metode ini dalam menganalisis senyawa *sanshool* dapat dipastikan.

Selain komponen *sanshool*, analisis GC-MS ekstrak kloroform andaliman juga menunjukkan adanya 67 puncak pada kromatogram, namun hanya 42

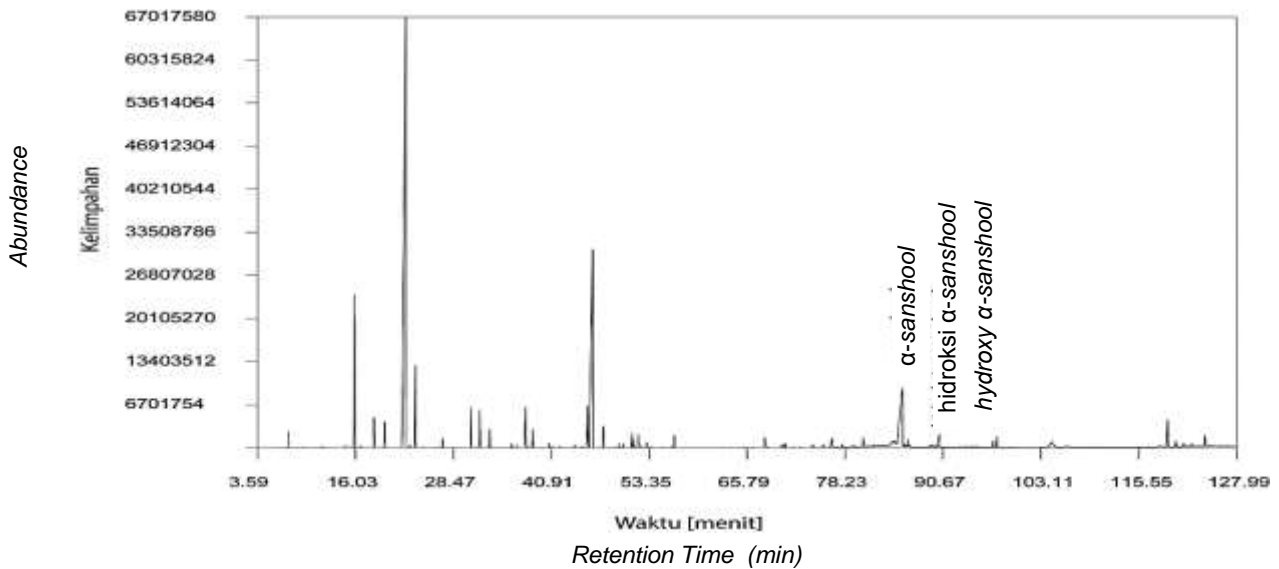
yang berhasil teridentifikasi. Dua komponen volatil utama pada andaliman adalah limonen dan geraniil asetat seperti yang telah dilaporkan sebelumnya (Suharta *et al.*, 2021).

Kandungan sanshool andaliman kering

Semua metode pengeringan berhasil menurunkan kadar air dan aktivitas air di bawah 17,9% dan 0,6 (Suharta *et al.*, 2021). Kadar air 17,9% merupakan batas maksimal yang disarankan untuk spesies *Zanthoxylum* (Charoensup *et al.*, 2016). Aktivitas air

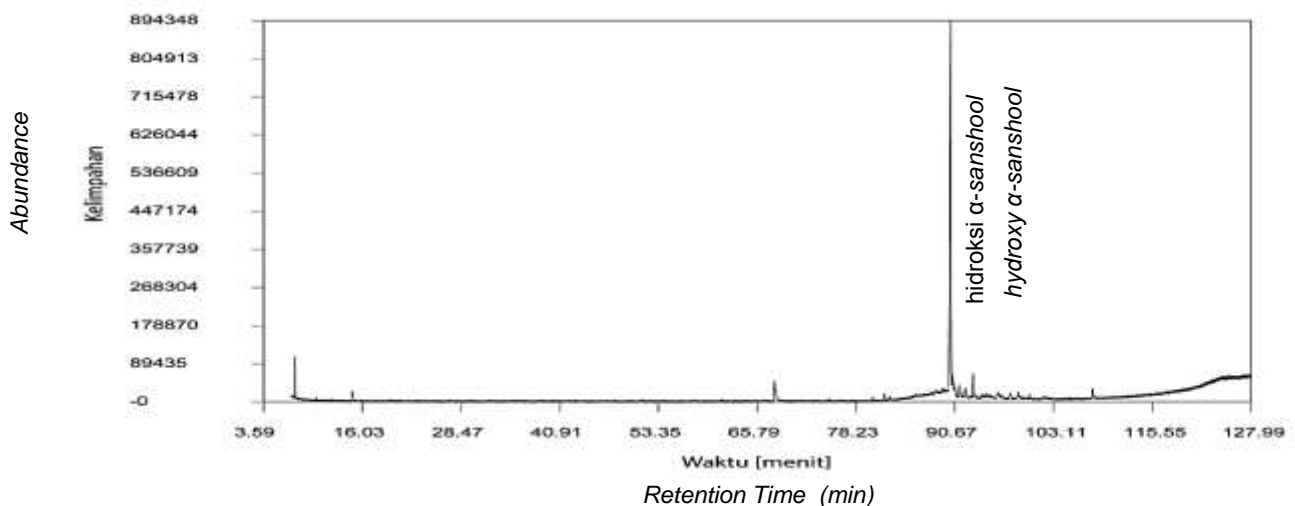
di bawah 0,6 dapat mencegah terjadinya degradasi mikrobiologis (El Aita *et al.*, 2019).

Hasil analisis ekstrak kloroform andaliman segar dan kering dengan GC-MS dapat dilihat pada Gambar 3. Hasil ini menunjukkan bahwa pendekatan analisis dengan GC-MS dapat mendeteksi keberadaan komponen *sanshool* pada semua sampel. Sesuai prediksi, α -*sanshool* diikuti oleh hidroksi α -*sanshool* merupakan dua isomer *sanshool* yang paling banyak ditemukan pada andaliman. Konsentrasi α -*sanshool* yang terekstrak pada penelitian ini berkisar antara 0,69-1,07%.

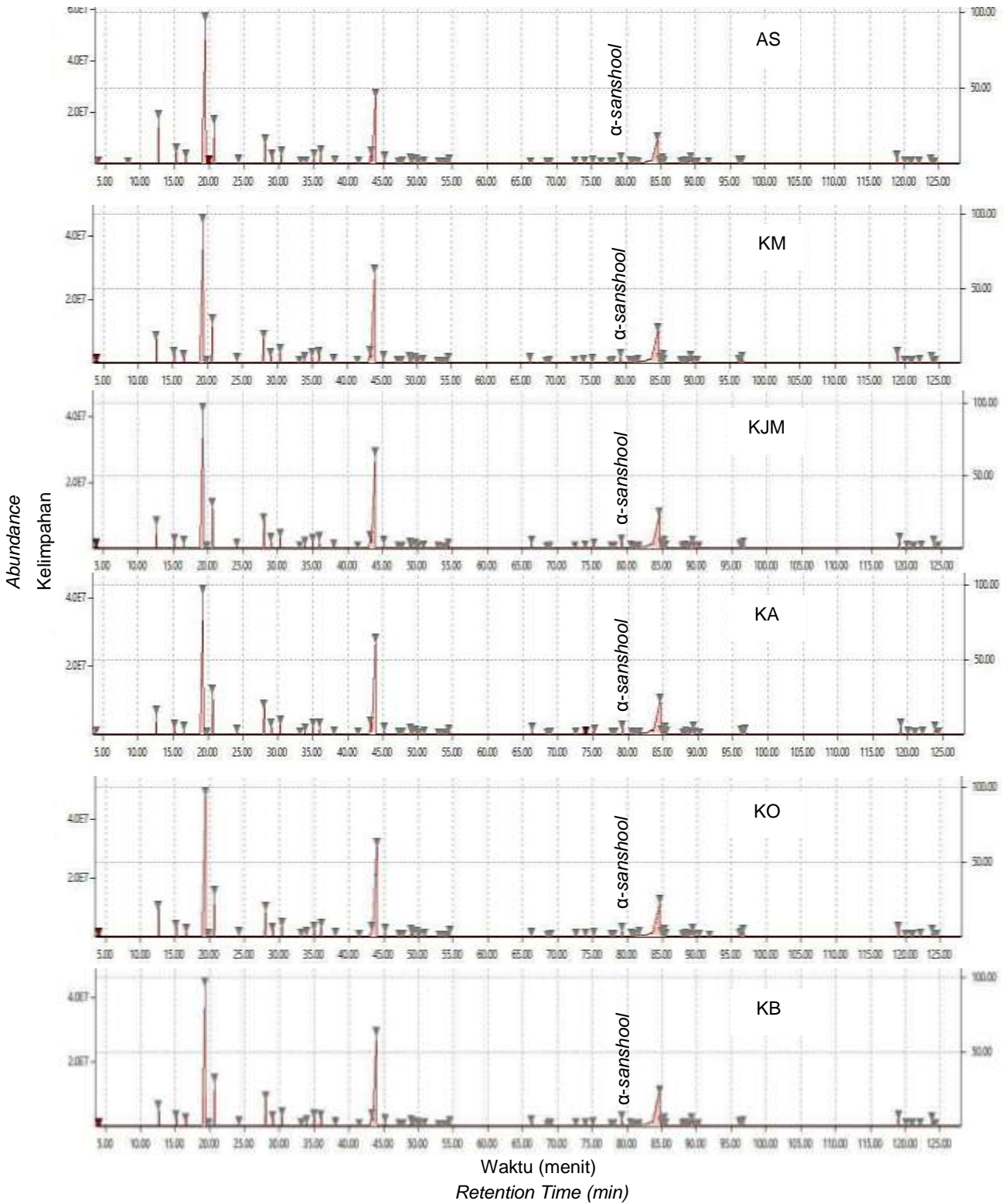


Gambar 1. Kromatogram hasil konfirmasi analisis ekstrak kloroform andaliman segar dengan *split ratio* 1:10 dan kenaikan suhu oven 2°C/menit

Figure 1. Chromatogram of chloroform extract of fresh andaliman as a confirmation, with *split ratio* 1:10 and oven temperature increase at 2°C/min



Gambar 2. Kromatogram injeksi standar hidroksi α -*sanshool*
Figure 2. Chromatogram of the standard solution of hydroxy α -*sanshool*



Keterangan: AS= andaliman segar, KM= kering matahari, KJM= kering jaring matahari (paranet), KA= kering angin, KO= kering oven, KB= kering beku
Note: AS= fresh andaliman, KM= sun dried andaliman, KJM= paranet-sun dried andaliman, K = oven dried andaliman, KB= freeze dried andaliman

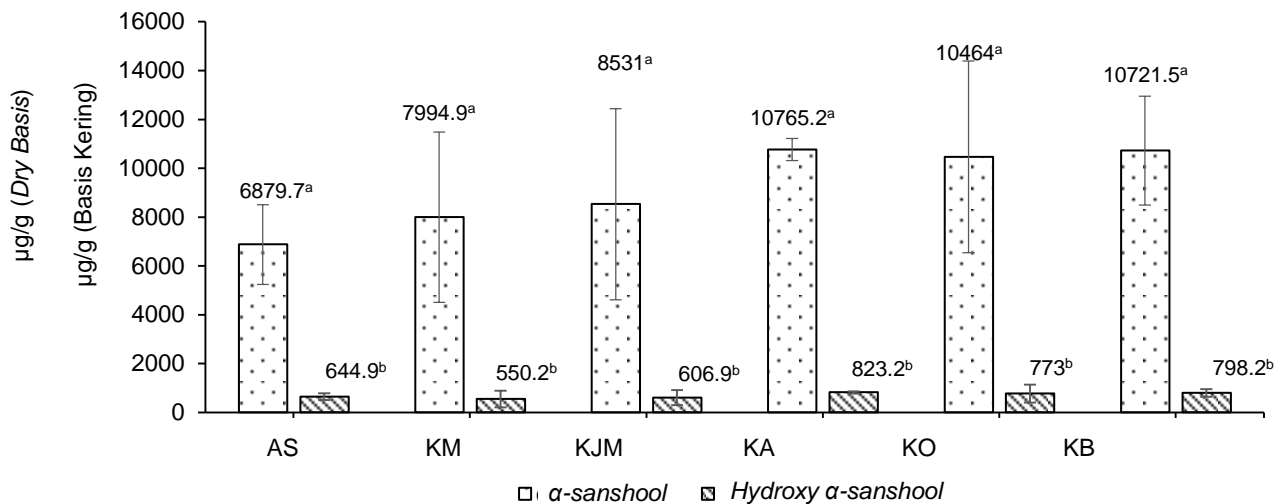
Gambar 3. Total ion chromatogram (TIC) dari analisis GC-MS pada sampel andaliman
Figure 3. Total ion chromatogram (TIC) of andaliman samples, analyzed by GC-MS

Hasil ini lebih rendah daripada kandungan hidroksi α -sanshool pada perikarp lada jepang (*Z. piperitum*) yang dilaporkan berkisar antara 1,4-3,1% (Sugai *et al.*, 2005b) dan perikarp lada Sichuan (*Z. bungeanum* dan *Z. schinifolium*) yang berkisar antara 3–6% (Yang, 2008). Akan tetapi, kandungan α -sanshool dari andaliman jauh di atas kandungan α -sanshool pada perikarp lada jepang yang dilaporkan berkisar antara 0,43-0,67% (Sugai *et al.*, 2005b). Kandungan *sanshool* pada lada Jepang dan Sichuan yang dilaporkan sebelumnya, diperoleh dari hasil analisis bagian perikarp saja, sedangkan pada penelitian ini, kandungan *sanshool* dilaporkan berdasarkan buah utuh andaliman yang mengandung biji dan perikarp. Biji pada spesies *Zanthoxylum* dapat mencapai 43-49% dari total berat buah dan tidak mengandung komponen volatil dan senyawa aktif trigeminal yang substansial (Sugai *et al.*, 2005b). Selain itu, analisis pada kedua laporan tersebut menggunakan metode HPLC yang mungkin dapat mengakibatkan perbedaan konsentrasi *sanshool* yang dianalisis.

Konsentrasi ambang batas deteksi (*detection threshold*) α -sanshool secara sensori dilaporkan berkisar 1/3 dari konsentrasi ambang batas hidroksi α -sanshool. Selain itu, durasi sensasi trigeminal dari α -sanshool juga dilaporkan sekitar dua kali durasi dari hidroksi α -sanshool (Sugai *et al.*, 2005a). Oleh karena itu, walaupun konsentrasi α -sanshool pada andaliman jauh di bawah konsentrasi hidroksi α -

sanshool pada lada Jepang dan Sichuan, andaliman diprediksi memiliki intensitas sensasi trigeminal yang serupa karena α -sanshool yang banyak ditemukan pada andaliman memiliki ambang batas deteksi yang jauh lebih rendah dan durasi yang jauh lebih lama daripada hidroksi α -sanshool.

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa *sanshool* mudah mengalami oksidasi karena memiliki gugus triena terkonjugasi dan mengalami degradasi yang signifikan ketika terpapar oleh panas dan radiasi ultraviolet yang berkepanjangan (Yang, 2008). Komponen *sanshool* juga mudah mengalami isomerisasi, hidrolisis, dan oksidasi selama penyimpanan yang mengakibatkan produk lada Sichuan yang sudah lama memiliki intensitas aroma dan trigeminal yang lebih rendah daripada produk yang masih baru (Yang, 2008). Isomerisasi dapat mengubah *sanshool* yang dulunya memiliki sensasi trigeminal menjadi *all-trans* isomer yang tidak memiliki sensasi trigeminal (Bader *et al.*, 2014). Pada penelitian ini, pengeringan tidak menunjukkan perubahan konsentrasi komponen *sanshool* pada andaliman secara signifikan seperti yang terlihat dari Gambar 4. Walaupun pengeringan cenderung mengakibatkan kerusakan komponen-komponen yang ada di dalam pangan, hasil analisis ragam (ANOVA) menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan pada kandungan α -sanshool dan hidroksi α -sanshool dari semua sampel andaliman (p -value > 0,05).



Keterangan: AS= andaliman segar, KM= kering matahari, KJM= kering jaring matahari, KA= kering angin, KO= kering oven, KB= kering beku. Rata-rata \pm SD dalam $\mu\text{g/g}$ basis kering dari dua ulangan; ^{a,b} huruf yang sama pada masing-masing senyawa menandakan tidak ada perbedaan yang signifikan, $p > 0,05$

Note: AS= fresh andaliman, KM= sun dried andaliman, KJM= parant-sun dried andaliman, KO= oven dried andaliman, KB= freeze dried andaliman. Mean \pm SD in $\mu\text{g/g}$ dry basis from duplicate experiments; ^{a,b} the same superscript letter means no significant difference, $p > 0.05$

Gambar 4. Kuantitas relatif dari komponen aktif trigeminal andaliman
Figure 4. Relative quantity of trigeminal-active compounds of andaliman

Beberapa pemikiran yang dapat menjelaskan fenomena ini antara lain komponen *sanshool* kemungkinan ada yang terikat dengan matriks pangan atau komponen lain dalam pangan seperti gula yang membentuk glikosida. Beberapa komponen volatil dari daun lada Jepang dilaporkan berikatan dengan molekul gula yang dapat dilepaskan selama proses pengeringan melalui reaksi hidrolisis oleh enzim yang berada di dalam matriks pangan itu sendiri atau oleh asam yang ada di dalam sel (Jiang dan Kubota, 2001; de Torres *et al.*, 2010). Pengeringan juga dapat merusak struktur sel dan organel sehingga melepaskan lebih banyak komponen yang dapat terekstrak oleh pelarut (de Torres *et al.*, 2010). Selain itu, keberadaan air dalam sampel dapat mengurangi efisiensi ekstraksi oleh pelarut non polar karena mengurangi interaksi antara pelarut yang hidrofobik dengan komponen target (Malekzadeh *et al.*, 2016). Walaupun pengeringan dapat merusak komponen *sanshool*, pembebasan komponen ini selama pengeringan diduga dapat mengimbangi laju kerusakannya. Oleh karena itu, penggunaan andaliman yang sudah dikeringkan sebagai material perisa andaliman akan lebih efisien karena ekstraksi komponen volatil dan *sanshool* dapat berlangsung dengan lebih baik, selain ketersediaan bahan baku akan lebih terjamin.

Napitupulu *et al.* (2020) melaporkan bahwa andaliman kering beku dan kering oven memiliki intensitas sensasi trigeminal paling tinggi di antara beberapa metode pengeringan serta memiliki intensitas yang serupa dengan andaliman segar. Oleh karena itu, Napitupulu *et al.* (2020) merekomendasikan pengeringan oven pada suhu 54°C untuk mengeringkan andaliman dengan mempertimbangkan biaya pengeringan yang jauh lebih ekonomis dibandingkan dengan pengeringan beku. Pada pengeringan oven, penentuan suhu yang optimal sangat penting karena suhu pengeringan oven yang terlalu tinggi dapat berakibat penurunan intensitas sensori dari bahan pangan karena degradasi oleh suhu tinggi (Ge *et al.*, 2020). Akan tetapi, suhu yang terlalu rendah dapat memperpanjang lama pengeringan yang juga dapat merusak komponen aktif pada pangan (Chua *et al.*, 2019). Tingginya intensitas sensasi trigeminal dari andaliman kering beku dan oven disebabkan oleh tingginya kadar α -*sanshool* (Gambar 4). Walaupun andaliman kering beku memiliki kadar *sanshool* yang tinggi, besarnya biaya pengeringan ini menjadi penghalang untuk diterapkan secara luas.

Pengeringan angin dilaporkan sebelumnya memiliki intensitas sensasi trigeminal yang paling rendah (Napitupulu *et al.*, 2020), akan tetapi, penelitian ini menunjukkan bahwa andaliman kering angin memiliki kandungan α -*sanshool* yang tinggi. Ren-

dahnya intensitas sensasi trigeminal dari andaliman kering angin yang dilaporkan oleh Napitupulu *et al.* (2020) dapat disebabkan oleh degradasi *sanshool* selama pengeringan mengingat andaliman tersebut dikeringkan di luar ruangan yang tidak berpendingin udara sehingga kelembapannya juga tinggi. Kelembaban yang tinggi tersebut mencegah evaporasi air dari matriks andaliman secara efektif dan cepat yang dapat memicu degradasi enzimatis, kimiawi, dan mikrobiologis pada awal pengeringan dikarenakan aktivitas dan kadar air yang masih tinggi. Pengeringan angin memiliki kelemahan yaitu durasi pengeringan yang sangat panjang sehingga beresiko mengalami degradasi yang signifikan, karena proses metabolisme yang terus berlangsung selama pengeringan (Chua *et al.*, 2019) dan membutuhkan ruangan berpendingin udara untuk menurunkan kelembapan di sekitar andaliman agar menghasilkan produk stabil selama penyimpanan.

Pengeringan matahari dilaporkan oleh Napitupulu *et al.* (2020) menghasilkan intensitas trigeminal yang cukup rendah ketika dibandingkan dengan pengeringan lain selain pengeringan angin. Hal yang serupa juga terlihat pada penelitian ini, pengeringan matahari memiliki kandungan *sanshool* yang rendah. Penggunaan paranet ini diharapkan dapat mengurangi degradasi komponen *sanshool* yang sensitif terhadap radiasi ultraviolet (Yang, 2008) serta menghasilkan andaliman dengan warna yang lebih baik (Télez *et al.*, 2018). Akan tetapi, seperti yang terlihat pada Gambar 4, tidak ada peningkatan kadar *sanshool* yang signifikan dengan penggunaan paranet. Pengeringan matahari juga sangat bergantung kepada kondisi cuaca ketika pengeringan dilakukan, hujan atau cuaca yang berawan dapat menggagalkan proses pengeringan. Selain itu, pengeringan matahari dapat menyebabkan andaliman terkontaminasi oleh material yang berasal dari lingkungan seperti serangga, tikus, dan burung (Orphanides *et al.*, 2015).

Dengan mempertimbangkan karakteristik fisik, sensori, dan komponen volatil dari andaliman kering yang sudah dilaporkan sebelumnya (Suharta *et al.*, 2021), kandungan *sanshool*, dan durasi pengeringan, pengeringan oven merupakan metode yang disarankan untuk diterapkan dalam memperpanjang umur simpan andaliman. Napitupulu *et al.* (2020) juga menyarankan pengeringan oven sebagai metode pengeringan andaliman karena biaya dan waktu pengeringan yang jauh lebih efisien dibandingkan pengeringan beku. Walaupun andaliman kering tidak memiliki profil sensori yang serupa dengan andaliman segar, namun hasil andaliman kering ini masih dapat diterima oleh para panelis (Suharta *et al.*, 2021).

KESIMPULAN

GC-MS dapat digunakan untuk menganalisis komponen *sanshool* sehingga dapat mempercepat proses analisis senyawa pembentuk cita rasa andaliman secara utuh. Pengeringan tidak mengakibatkan perubahan yang signifikan terhadap kuantitas komponen *sanshool* dari andaliman. Pengeringan oven merupakan metode pengeringan yang ideal untuk memperpanjang umur simpan andaliman karena menghasilkan andaliman kering dengan kuantitas komponen *sanshool* yang serupa dalam waktu yang lebih cepat dibandingkan dengan pengeringan lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dana penelitian dari Kementerian Riset dan Pendidikan Tinggi melalui program *World Class Research* 077/SP2H/LT/DRPM/2021.

DAFTAR PUSTAKA

- Bader M, Stark TD, Dawid C, Lösch S, Hofmann T. 2014. All-trans-Configuration in *Zanthoxylum* alkylamides swaps the tingling with a numbing sensation and diminishes salivation. *J Agric Food Chem* 62: 2479-2488. <https://doi.org/10.1021/jf500399w>
- Charoensup R, Duangyod T, Phuneerub P, Singharachai C. 2016. Pharmacognostic specification of *Zanthoxylum limonella* (Dennst.) Alston: Fruits and seeds in Thailand. *J Adv Pharm Technol Res* 7: 134. <https://doi.org/10.4103/2231-4040.191421>
- Chen K, Zhang F, Kan J. 2012. Characterization of chlorophyll breakdown in green prickleyashes (*Zanthoxylum schinifolium* Zucc.) during slow drying. *Eur Food Res Technol* 234: 1023-1031. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1718-7>
- Chua LYW, Chong CH, Chua BL, Figiel A. 2019. Influence of drying methods on the antibacterial, antioxidant and essential oil volatile composition of herbs: a Review. *Food Bioprocess Technol* 12: 450-476. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2227-x>
- de Torres C, Díaz-Maroto MC, Hermosín-Gutiérrez I, Pérez-Coello MS. 2010. Effect of freeze-drying and oven-drying on volatiles and phenolics composition of grape skin. *Anal Chim Acta* 660: 177-182. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.10.005>
- El Aita I, Breitzkreutz J, Quodbach J. 2019. On-demand manufacturing of immediate release levetiracetam tablets using pressure-assisted microsyringe printing. *Eur J Pharm Biopharm* 134: 29-36. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.11.008>
- Ge S, Chen Y, Ding S, Zhou H, Jiang L, Yi Y, Deng F, Wang R. 2020. Changes in volatile flavor compounds of peppers during hot air drying process based on headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry (HS-GC-IMS). *J Sci Food Agric* 100: 3087-3098. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10341>
- Hao D, Wen X, Liu L, Wang L, Zhou X, Li Y, Zeng X, He G, Jiang X. 2019. Sanshool improves UVB-induced skin photodamage by targeting JAK2/STAT3-dependent autophagy. *Cell Death Dis* 10: 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-1261-y>
- Jiang L, Kubota K. 2001. Formation by mechanical stimulus of the flavor compounds in young leaves of Japanese pepper (*Zanthoxylum piperitum* DC.). *J Agric Food Chem* 49: 1353-1357. <https://doi.org/10.1021/jf001166m>
- Jie Y, Li S, Ho C-T. 2019. Chemical composition, sensory properties and application of Sichuan pepper (*Zanthoxylum genus*). *Food Sci Hum Wellness* 8: 115-125. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.03.008>
- Kim SC, Moon MY, Lee HY, Kim J, Chang MS, Cha J. 2021. Skin care benefits of bioactive compounds isolated from *Zanthoxylum piperitum* DC. (Rutaceae). *Trop J Pharm Res* 18: 2385-2390.
- Li R, Lu F, Sun X, He L, Duan H, Peng W, Wu C. 2022. Development and in vivo Evaluation of Hydroxy- α -Sanshool Intranasal Liposomes as a Potential Remedial Treatment for Alzheimer's Disease. *Int J Nanomedicine* 17: 185-201. <https://doi.org/10.2147/IJN.S339979>
- Li RL, Zhang Q, Liu J, Sun JY, He LY, Duan HX, Peng W, Wu CJ. 2020. Hydroxy- α -sanshool possesses protective potentials on H₂O₂-stimulated PC12 cells by suppression of oxidative stress-induced apoptosis through regulation of PI3K/Akt Signal Pathway. *Oxid Med Cell Longev* 2020: 3481758. <https://doi.org/10.1155/2020/3481758>
- Liu Y, Meng X, Sun L, Pei K, Chen L, Zhang S, Hu M. 2022. Protective effects of hydroxy- α -sanshool from the pericarp of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. On D-galactose/AICl₃-induced Alzheimer's disease-like mice via Nrf2/HO-1 signaling pathways. *Eur J Pharmacol* 914: 174691. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174691>

- Luo J, Ke J, Hou X, Li S, Luo Q, Wu H, Shen G, Zhang Z. 2022. Composition, structure and flavor mechanism of numbing substances in Chinese prickly ash in the genus *Zanthoxylum*: A review. *Food Chem* 373: 131454. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131454>
- Malekzadeh M, Abedini Najafabadi H, Hakim M, Feilizadeh M, Vossoughi M, Rashtchian D. 2016. Experimental study and thermodynamic modeling for determining the effect of non-polar solvent (hexane)/polar solvent (methanol) ratio and moisture content on the lipid extraction efficiency from *Chlorella vulgaris*. *Bioresour Technol* 201: 304-311. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.066>
- Napitupulu FIR, Wijaya CH, Sulistiyani, Prangdimurti E, Akyla C, Yakhin LA, Indriyani S. 2020. Comparison of several processing methods in preserving the flavor properties of andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) fruit. *J Eng Technol Sci* 52: 399-412. <https://doi.org/10.5614/j.eng.technol.sci.2020.52.3.7>
- Orphanides A, Goulas V, Gekas V. 2015. Drying Technologies: Vehicle to high-quality herbs. *Food Eng Rev* 8: 164-180. <https://doi.org/10.1007/s12393-015-9128-9>
- Reyes-Trejo B, Morales-Hernández MN, González-Anduaga GM, Balderas-López JL, Tavares-Carvalho JC, Navarrete A. 2019. Evidence for Involvement of TRPV1 receptors and potassium channels in the seizures induced by α -sanshool. *Planta Medica Int Open* 6: e23-e27. <https://doi.org/10.1055/a-0871-2496>
- Sugai E, Morimitsu Y, Iwasaki Y, Morita A, Watanabe T, Kubota K. 2005a. Pungent qualities of sanshool-related compounds evaluated by a sensory test and activation of rat TRPV1. *Biosci Biotechnol Biochem* 69: 1951-1957. <https://doi.org/10.1271/bbb.69.1951>
- Sugai E, Morimitsu Y, Kubota K. 2005b. Quantitative analysis of sanshool compounds in Japanese pepper (*Xanthoxylum piperitum* DC.) and their pungent characteristics. *Biosci Biotechnol Biochem* 69: 1958-1962. <https://doi.org/10.1271/bbb.69.1958>
- Suharta S, Hunaefi D, Wijaya CH. 2021. Changes in volatiles and aroma profile of andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) upon various drying techniques. *Food Chem* 365: 130483. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130483>
- Téllez MC, Figueroa IP, Téllez BC, Vidaña ECL, Ortiz AL. 2018. Solar drying of Stevia (*Reboudiana Bertoni*) leaves using direct and indirect technologies. *Sol Energy* 159: 898-907. <https://doi.org/10.1016/j.solener.2017.11.031>
- Wang L, Fan W, Zhang M, Zhang Q, Li L, Wang J, Zhu L, Wei D, Peng W, Wu C. 2019. Antiobesity, regulation of lipid metabolism, and attenuation of liver oxidative stress effects of hydroxy- α -sanshool isolated from *Zanthoxylum bungeanum* on high-fat diet-induced hyperlipidemic rats. *Oxid Med Cell Longev* 2019: 5852494. <https://doi.org/10.1155/2019/5852494>
- Wijaya CH, Napitupulu FI, Karnady V. 2018. A review of the bioactivity and flavor properties of the exotic spice "andaliman" (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.). *Food Rev Int* 35: 1-19. <https://doi.org/10.1080/87559129.2018.1438470>
- Wijaya CH. 2000. Isolasi dan identifikasi senyawa trigeminal aktif buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC). *Hayati J Biosci* 7: 91-95.
- Wu Z, Wang W, Sun L, Wei A, Wang D. 2020. Accumulation and biosynthesis of hydroxyl- α -sanshool in varieties of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. by HPLC-fingerprint and transcriptome analyses. *Ind Crops Prod* 145: 111998. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111998>
- Yang X. 2008. Aroma constituents and alkylamides of red and green huajiao (*Zanthoxylum bungeanum* and *Zanthoxylum schinifolium*). *J Agric Food Chem* 56: 1689-1696. <https://doi.org/10.1021/jf0728101>
- Zeng X, Li X, Wang X, Wen X, Jiang X. 2019. The effect of *Zanthoxylum bungeanum* maxim extract on crow's feet: A double-blind, split-face trial. *Dermatol Ther* 32: e13079. <https://doi.org/10.1111/dth.13079>
- Zhang M, Xie M, Wei D, Wang L, Hu M, Zhang Q, He Z, Peng W, Wu C. 2019. Hydroxy- α -sanshool isolated from *Zanthoxylum bungeanum* attenuates learning and memory impairments in scopolamine-treated mice. *Food Funct* 10: 7315-7324. <https://doi.org/10.1039/C9FO00045C>
- Zhu L, Wang L, Chen X, Peng W, Liu Y, Yu L, Liang F, Wu C. 2019. Comparative studies on flavor substances of leaves and pericarps of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. at different harvest periods. *Trop J Pharm Res* 18: 279-286. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v18i2.9>