

POTENSI MIKROEMULSI β -KAROTEN DALAM MENGHAMBAT FOTOOKSIDASI VITAMIN C SISTEM AQUEOUS

[The Potential Inhibition of B-Carotene Microemulsion on Vitamin C Photooxidation in Aqueous Systems]

Setyaningrum Ariviani^{1)*}, Sri Raharjo²⁾, dan Pudji Hastuti²⁾

¹⁾ Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret

²⁾ Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada

Diterima 26 Agustus 2010 / Disetujui 11 Juni 2011

ABSTRACT

Photooxidation in food system causes nutritional losses and produces undesirable flavor, toxic and color compounds, which make foods unacceptable to consumers. The objective of this research was to determine β -carotene microemulsion inhibitory effect on vitamin C photooxidation in aqueous food model. Into aqueous food models containing vitamin C (450 ppm for model 1; 300 ppm for model 2) 2% microemulsion or β -carotene microemulsion and erythrosine as photosensitizer, were added. The final β -carotene content in aqueous food model was equal to 0.6 or 12 ppm. The result indicated that microemulsion have ability to inhibit vitamin C photodegradation under light but did not show the ability under dark condition. The inhibitory effectiveness of both 6 and 12 ppm β -carotene microemulsion on vitamin C photodegradation were insignificant. The 6 ppm β -carotene microemulsion was proven to effectively inhibit vitamin C photooxidation in aqueous food model better than that of empty microemulsion or free β -carotene. The vitamin C photodegradation rate on model system 1 and 2 were 9.5 ± 2.48 and 6.4 ± 1.58 mg.L⁻¹. hour⁻¹ (β -carotene microemulsion); -14.8 ± 1.69 and -9.5 ± 1.23 mg.L⁻¹. hour⁻¹ (empty microemulsion); -16.0 ± 1.64 and -10.3 ± 0.46 mg.L⁻¹. hour⁻¹ (free β -carotene), respectively.

Key words: Microemulsion, β -carotene, photooxidation, vitamin C, aqueous system

PENDAHULUAN

Fotooksidasi dalam sistem pangan menyebabkan terbentuknya off-flavor, toksin, dan merusak nutrisi seperti rusaknya asam amino dan asam lemak esensial, vitamin D dan vitamin C sehingga menjadi kurang diterima atau bahkan tidak diterima oleh konsumen (Lee, 2002). Reaksi fotooksidasi mampu menginisiasi kerusakan oksidatif dengan kecepatan 1.500 kali lebih cepat dibanding kerusakan autooksidatif (Pokornyyet al., 2001). Fotooksidasi dapat dihambat oleh antioksidan yang memiliki kemampuan sebagai senyawa quencher melalui tiga jalur, yaitu: quenching sensitizer triplet tereksitasi, quenching oksigen singlet secara fisik, dan quenching oksigen singlet secara kimiawi. Efektivitas antioksidan sangat dipengaruhi oleh medium reaksinya, dinyatakan dengan istilah "polar-paradox". Antioksidan polar lebih efektif dalam substrat minyak dan antioksidan non polar lebih efektif dalam substrat polar (Pokornyyet al., 2001).

β -karoten yang merupakan antioksidan hidrofobik, diketahui mampu berperan sebagai senyawa quencher alami terbaik untuk meminimalisasi fotooksidasi dalam sistem pangan terkait dengan kemampuannya sebagai quencher sensitizer triplet tereksitasi sekaligus quencher oksigen singlet. β -karoten merupakan senyawa quencher dengan quenching fisik paling kuat dalam sistem pangan, reaksinya: $^1O_2 + ^1\beta\text{-kar} \rightarrow ^3O_2 + ^3\beta\text{-kar}$. Quenching sensitizer triplet tereksitasi dengan transfer energi antara β -karoten singlet ($^1\beta\text{-kar}$) dengan sensitizer triplet

terekstasi ($^3\text{Sen}^*$) membentuk β -karoten triplet tereksitasi ($^3\beta\text{-kar}^*$) (Beutner et al., 2000). β -karoten triplet tereksitasi kembali ke kondisi ground state dengan melepaskan panas (Choe and Min, 2006).

Kecepatan quenching oksigen singlet oleh β -karoten lebih tinggi dibanding quersetin, alfa-tokoferol, askorbil palmitat maupun asam askorbat, yaitu $4,6 \times 10^9$ M⁻¹ s⁻¹ (β -karoten), $2,7 \times 10^7$ M⁻¹ s⁻¹ (α -tokoferol), $3,2 \times 10^9$ M⁻¹ s⁻¹ (quersetin), $1,0 \times 10^8$ M⁻¹ s⁻¹ (askorbil palmitat), $5,77 \times 10^8$ M⁻¹ sec⁻¹ (asam askorbat) (Min and Boff, 2002; Lee et al., 1997; Sibeu, 2005). β -karoten terbukti berperan sebagai quencher oksigen singlet yang efektif pada minyak kedelai yang mengandung klorofil sebagai fotosensitizer (Jung et al., 1991), pada vitamin D₂ yang mengandung riboflavin sebagai fotosensitizer (Li et al., 2000) dan pada minyak kedelai dengan eritrosin sebagai sensitizer (Yang et al., 2002), dengan kecepatan quenching berturut-turut $4,60 \times 10^9$ M⁻¹ s⁻¹, 5×10^9 M⁻¹ s⁻¹ dan $7,3 \times 10^9$ M⁻¹ s⁻¹. Kemampuan β -karoten ini terkait dengan strukturnya yang memiliki banyak diena terkonjugasi, sehingga mampu melepaskan energi oksigen singlet sebagai panas (Edge et al., 1997; Li et al., 2000).

β -karoten bersifat hidrofobik, oleh karena itu pencampuran β -karoten ke dalam sistem aqueous memerlukan teknik yang memungkinkan β -karoten terdispersi merata, sehingga akan lebih efektif dalam penghambatan fotooksidasi dan sekaligus memberikan kenampakan yang lebih menarik. Teknik mikroemulsi o/w memungkinkan pelarutan substansi yang bersifat hidrofobik ke sistem yang bersifat hidrofilik. Mikroemulsi merupakan dispersi isotropik yang terdiri dari fase minyak dan fase air yang memiliki ukuran droplet fase terdispersi kurang

*Korespondensi Penulis :
Email : stya_ariviyani@yahoo.com

dari 1 μm (5 – 100 nm), stabil terhadap perubahan suhu, transparan, viskositasnya rendah, dan dapat digunakan sebagai *delivery system* substansi yang bersifat hidrofob agar dapat didispersikan ke dalam sistem yang bersifat hidrofilik dan sebaliknya sehingga dapat meningkatkan efektivitas dan bioavailabilitas substansi tersebut (Flanagan and Singh, 2006; Spornath *et al.*, 2003).

Efektivitas β -karoten sebagai senyawa *quencher* telah banyak dipelajari baik dalam minyak maupun model larutan aqueous, tetapi umumnya dalam kondisi homogen. Dalam sistem yang heterogen, keberadaan oksigen singlet dan reaksinya lebih kompleks dibanding dalam sistem yang homogen.

Sari buah jeruk merupakan salah satu contoh pangan dengan sistem heterogen yang banyak dikonsumsi, kaya vitamin C, namun rentan terhadap kerusakan fotooksidatif. (Solomon *et al.*, 1995) melaporkan bahwa cahaya fluoresen memiliki pengaruh yang signifikan terhadap kerusakan vitamin C dan penerimaan sensoris sari buah jeruk yang disimpan pada suhu kamar (25 – 30 °C) selama 32 hari. Vitamin C sari buah jeruk yang dipapar cahaya matahari, cahaya fluoresen maupun UV mengalami degradasi dengan kinetika reaksi ordo nol. Laju kerusakan vitamin C sari buah jeruk bervariasi pada kondisi paparan cahaya yang berbeda dan kurang dipengaruhi oleh UV (Concard *et al.*, 2005).

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan efektivitas mikroemulsi β -karoten dalam menghambat kerusakan oksidatif vitamin C pada model pangan aqueous yang terdiri dari dua sistem model yang mendekati sistem sari buah jeruk, yaitu sistem model yang tersusun atas air, gula, vitamin C, asam sitrat, dengan pewarna sintetik FD&C Red No. 3 (*erythrosine*) sebagai fotosensitizer dan sistem model minuman rasa jeruk dengan *sensitizer* FD&C Red No. 3. Penelitian ini juga mengkaji stabilitas dispersi mikroemulsi β -karoten dalam model pangan aqueous selama iluminasi dengan cahaya fluoresen.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan utama yang digunakan pewarna sintetik FD&C red No. 3 (*erythrosine*) dari Intisari Yogyakarta, β -karoten, Span 80, Span 40, Span 20 dan riboflavin dari Sigma, L-ascorbic acid dari Aldrich, Tween 80, KH_2PO_4 K_2HPO_4 dan NaOH dari Merck, gula (sukrosa), *food grade* asam sitrat, aquades, bubuk minuman rasa jeruk, minyak kedelai ("Happy salad oil") di beli di Yogyakarta.

Alat utama yang digunakan *Hotplate magnetic stirrer* Lab. Companion HP-3000, Kotak kayu (70 X 50 X 60 cm) yang dilengkapi 3 buah lampu *cool white fluoresen low UV radiation* (osram, 18 Watt), Lux meter, Spectrofotometer shimadzu UV 1650 pc, transfer pipet, peralatan gelas.

Pembuatan mikroemulsi β -karoten

Mikroemulsi dibuat dengan metode emulsifikasi (Flanagan and Singh, 2006) menggunakan kombinasi 3 campuran surfaktan HLB rendah (Span 80), sedang (Span 40, span 20) dan tinggi (Tween 80), minyak dan air. Mikroemulsi dibuat

dengan menambahkan air ke dalam campuran minyak-surfaktan dengan cara pengadukan dan pemanasan menggunakan *hotplate magnetic stirrer* suhu $70 \pm 5^\circ\text{C}$ selama 20 menit. Pembuatan mikroemulsi β -karoten sama dengan proses pembuatan mikroemulsi, namun β -karoten ditambahkan ke dalam campuran minyak-surfaktan sebelum penambahan air.

Pengujian penghambatan kerusakan fotooksidatif vitamin C dan stabilitasnya selama iluminasi

Model pangan aqueous dengan berbagai perlakuan penambahan β -karoten dimasukkan dalam botol serum dengan atau tanpa dibungkus al-foil, ditutup, dipapar dengan cahaya fluoresen 2000 lux selama 8 jam. Setiap interval waktu 2 jam (0, 2, 4, 6 dan 8 jam) dilakukan analisis vitamin C dengan metode *UV photodynamic* (Jung *et al.*, 1995) dan diuji stabilitasnya selama iluminasi dengan pengamatan visual terhadap dispersi yang terbentuk antara sistem model dengan β -karoten yang ditambahkan.

Model pangan aqueous yang diuji meliputi 2 model. Model 1 tersusun atas vitamin C (450 mg/l = 0,045%), sukrosa (6%), asam sitrat (1%), dan aquadest (92,89%) dengan 20 ppm pewarna FD&C Red No. 3 (eritrosin) sebagai fotosensitizer. Model 2 adalah minuman rasa jeruk yang tersusun atas serbuk jeruk, sukrosa, perisa jeruk, vitamin, penstabil, pemanis aspartam, asam sitrat, mineral trikalsium fosfat, pewarna sintetik tartrazin dan sunset yellow, sebagai *sensitizer* ditambahkan 5 ppm eritrosin.

Analisis vitamin C dengan metode *riboflavin-sensitized photodynamic uv spectrophotometry* (Jung *et al.*, 1995)

Prinsip analisis vitamin C dengan metode ini adalah oksidasi vitamin C sampel dengan penyinaran 5500 lux selama 15 menit dengan ditambah 6 ppm riboflavin sebagai sensitizer. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 265 nm sebelum dan setelah penyinaran menggunakan spektrofotometer Shimadzu UV 1650 pc. Selisih absorbansi sebelum dan setelah penyinaran sebanding dengan vitamin C dalam sampel. Kuantifikasi kadar vitamin C dilakukan dengan membuat kurva standar vitamin C. Sebagai blanko digunakan larutan 6 ppm riboflavin dalam buffer fosfat pH 7,5. Laju penurunan vitamin C ditentukan dengan membuat kurva hubungan antara kadar vitamin C (sumbu Y) dengan waktu iluminasi cahaya (sumbu X). Slope merupakan laju kerusakan fotooksidatif vitamin C.

Analisis data

Data dianalisis menggunakan ANOVA dan untuk menguji perbedaan antar perlakuan dilakukan uji DMRT.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Efektivitas mikroemulsi β -karoten dalam menghambat Kerusakan fotooksidatif vitamin C sistem model dengan sensitizer 20 ppm eritrosin (Model 1)

Eritrosin dipilih sebagai *sensitizer*, disamping karena sifatnya yang larut air juga karena dalam sistem dengan eritrosin sebagai fotosensitizer, β -karoten memiliki kemampuan

sebagai *quencher* oksigen singlet dan *sensitizer* triplet tereksitasi, sedang dalam sistem yang sama dengan *sensitizer* klorofil, β -karoten hanya memiliki kemampuan sebagai *quencher* singlet oksigen tetapi tidak mampu berperan sebagai *quencher sensitizer* triplet tereksitasi (Lee and Min, 1988; Yang *et al.*, 2002).

Potensi mikroemulsi β karoten dalam menghambat kerusakan fotooksidatif vitamin C pada model 1 ditentukan dengan menguji aktivitas antifotooksidatifnya pada berbagai konsentrasi (0, 6 dan 12 ppm).

Konsentrasi ini dipilih dengan alasan, antara lain untuk mendekati kadar karotenoid sari buah jeruk, yaitu $12 \pm 6,7$ mg/l pada sari buah segar dan $10,4 \pm 6,9$ mg/l pada sari buah jeruk yang telah dipasteurisasi (Gama, Sylos, 2005). Selain itu juga terkait dengan konsentrasi yang menunjukkan kemampuan β -karoten sebagai *quencher* oksigen singlet maupun *sensitizer* triplet tereksitasi serta kapasitas β -karoten dalam menghambat fotooksidasi produk pangan.

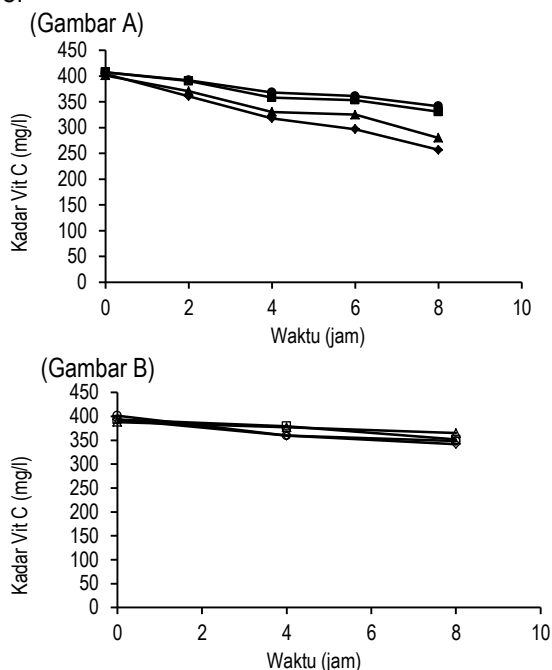
Yang *et al.* (2002) melaporkan bahwa β -karoten dengan konsentrasi kurang dari 1.86×10^{-6} M (1 ppm) memperlihatkan aktivitas sebagai *quencher* oksigen singlet pada model sistem minyak kedelai dalam pelarut aseton dengan sensitiser pewarna sintetik FD&C Red No 3 (Erythrosine), tetapi pada konsentrasi di atas 3.72×10^{-6} M (2 ppm) dapat berperan sebagai *quencher* oksigen singlet maupun *quencher* fotosensitizer erythrosine triplet tereksitasi. (De Azeredo *et al.*, 2003) melaporkan bahwa konsentrasi minimum β -karoten yang diperlukan untuk mencapai stabilitas oksidatif minyak kedelai yang memadai selama 6 bulan penyimpanan dalam botol PET (*polyethylene terephthalate*) pada suhu 25 °C adalah 7 ppm.

Berdasarkan Gambar 1 dan Tabel 1 diketahui bahwa baik pada kondisi gelap maupun kondisi terang terjadi penurunan kadar vitamin C pada semua perlakuan, dan penyimpanan terang memperlihatkan tingkat kerusakan yang lebih tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi autooksidasi vitamin C pada kondisi gelap dan fotooksidasi vitamin C pada kondisi terang. Laju penurunan kadar vitamin C model 1 pada berbagai konsentrasi mikroemulsi β -karoten yang disimpan dalam kondisi gelap tidak berbeda nyata dengan kontrol. Namun, pada kondisi penyimpanan terang, memperlihatkan laju kerusakan yang secara signifikan lebih rendah daripada kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa mikroemulsi β -karoten tidak memperlihatkan aktivitas antioksidan pada penyimpanan gelap, tetapi memiliki kemampuan penghambatan fotooksidasi vitamin C sistem model 1.

Li *et al.* (2000), Lee *et al.* (1988), dan Yang *et al.* (2002) menyatakan bahwa β -karoten tidak memperlihatkan aktivitas antioksidan pada kondisi gelap tetapi memperlihatkan kemampuan antifotooksidatif pada minyak kedelai yang disensitasi klorofil maupun eritrosin.

Potensi mikroemulsi β karoten dalam menghambat kerusakan vitamin C akibat fotooksidasi pada Tabel 1 menunjukkan bahwa mikroemulsi β -karoten 0 ppm memperlihatkan potensi penghambatan kerusakan fotooksidatif vitamin C meskipun lebih kecil dibanding konsentrasi 6 dan 12 ppm. Hal ini dimungkinkan karena mikroemulsi memiliki kemampuan membentuk film tipis yang mampu menghambat kontak *sensitizer* dan vitamin C maupun *sensitizer* dengan

oksigen sehingga menghambat terjadinya fotooksidasi vitamin C.



Keterangan :

- ◆, ◇ : Kontrol;
- , □ : mikroemulsi β karoten 0 ppm;
- , ○ : mikroemulsi β karoten 6 ppm;
- ▲, △ : mikroemulsi β karoten 12 ppm

Gambar 1. Grafik laju kerusakan vitamin C dalam model 1 dengan perlakuan cahaya (A) dan gelap (B) pada berbagai konsentrasi mikroemulsi β -karoten

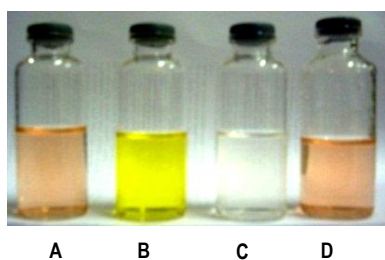
Tabel 1. Potensi mikroemulsi β -karoten dalam menghambat kerusakan vitamin C pada model 1 akibat fotooksidasi

Sampel Model 1 pada Berbagai Konsentrasi Mikroemulsi β -Karoten	Laju Kerusakan Vitamin C (mg. L ⁻¹ . Jam ⁻¹)	
	Terang (A)	Gelap (B)
Kontrol	-17,9 ± 1,02 ^c	-6,4 ± 0,86 ^a
Mikroemulsi β karoten 0 ppm	-14,8 ± 1,69 ^b	-5,5 ± 1,77 ^a
Mikroemulsi β karoten 6 ppm	-9,5 ± 2,48 ^a	-6,3 ± 0,75 ^a
Mikroemulsi β karoten 12 ppm	-8,1 ± 1,89 ^a	-5,2 ± 1,32 ^a

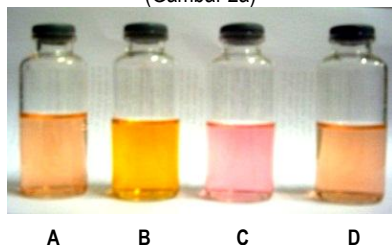
Ket: Huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi 95%.

Gambar 2 memperlihatkan bahwa perlakuan penambahan mikroemulsi β -karoten 0 ppm (mikroemulsi saja) pada kondisi terang menyebabkan warna eritrosin menghilang (menjadi tidak berwarna), mengindikasikan mikroemulsi memiliki kemampuan penghambatan fotooksidasi vitamin C dengan mengurangi efek sensitasi dari eritrosin.

Kenampakan model 1 dengan berbagai perlakuan penambahan β -karoten yang dipapar cahaya fluoresen 2000 lux pada kondisi terang maupun gelap (dibungkus al-foil) dapat dilihat pada Gambar 2. Gambar tersebut memperlihatkan tidak adanya pemisahan, mengindikasikan bahwa dispersi mikroemulsi β karoten stabil terhadap iluminasi cahaya fluoresen.



(Gambar 2a)



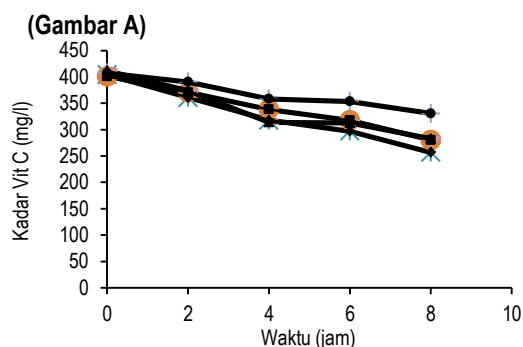
(Gambar 2b)

Gambar 2. Kenampakan model sistem dengan perlakuan kontrol (A), mikroemulsi β-karoten (B), mikroemulsi saja (C), β-karoten langsung (D) yang dipapar cahaya fluoresen 2000 lux dalam botol tembus cahaya (terang) (2a) dan dalam botol yang dibungkus al-foil (gelap) (2b)

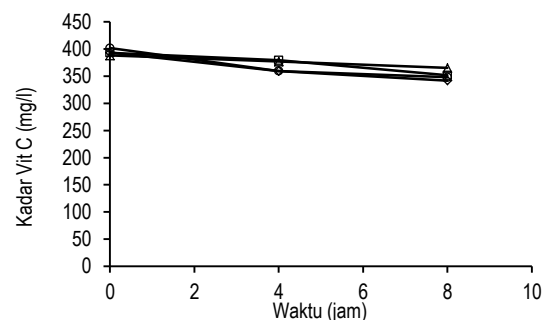
Laju kerusakan vitamin C pada perlakuan mikroemulsi β-karoten 6 ppm dan 12 ppm tidak berbeda nyata, sehingga dipilih konsentrasi 6 ppm untuk pengujian efektivitas mikroemulsi β-karoten dalam menghambat fotooksidasi model 1. Hasilnya (Gambar 3 dan Tabel 2) memperlihatkan bahwa penambahan β-karoten langsung (*free β-carotene*) memiliki laju kerusakan vitamin C yang tidak berbeda dengan kontrol maupun mikroemulsi saja (*empty microemulsion*), meskipun perlakuan mikroemulsi saja (*empty microemulsion*) berbeda nyata dengan kontrol. Ini berarti penambahan β-karoten langsung (*free β-carotene*) tidak memperlihatkan aktivitas penghambatan fotooksidasi vitamin C dalam model 1. Hal ini terkait dengan sifat β-karoten yang sangat lipofilik dan tidak larut dalam sistem aqueous, sehingga tidak mampu berperan dalam penghambatan fotooksidasi vitamin C dalam sistem tersebut. Efektivitas penghambatan fotooksidasi β-karoten dipengaruhi oleh jenis solven yang digunakan (Min, Boff, 2002; Yang *et al.*, 2002; Edge *et al.*, 1997), dan aktivitas *quenching* oleh β-karoten meningkat dengan semakin meningkatnya hidrofobitas (Kobayashi, Sakamoto, 1999).

Berdasarkan Tabel 2 mikroemulsi β karoten 6 ppm terbukti efektif dalam menghambat fotooksidasi vitamin C pada model 1 dengan penghambatan lebih besar dibanding masing-masing komponen (mikroemulsi saja maupun β-karoten saja). Hal ini dikarenakan mikroemulsi mampu memfasilitasi pelarutan β-karoten dalam sistem aqueous sehingga mampu meningkatkan efektivitasnya sebagai agensia antifotooksidasi. Menurut Flanagan dan Sing (2006) dan (Spemath *et al.*, 2003) mikroemulsi dapat digunakan sebagai *delivery system* substansi yang bersifat hidrofob agar dapat didispersikan ke dalam sistem yang bersifat hidrofilik dan sebaliknya sehingga dapat

meningkatkan efektivitas dan bioavailabilitas substansi tersebut. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Zang *et al.*, 2008) yang memperlihatkan bahwa efektivitas antimikrobia GML (gliserol monolaurat) lebih efektif dalam bentuk mikroemulsi dibandingkan GML saja atau mikroemulsinya saja (campuran etanol-Tween 20-air).



(Gambar B)



Keterangan :

- ◆, ◇ : Kontrol;
- , □ : mikroemulsi β karoten 0 ppm;
- , ○ : mikroemulsi β karoten 6 ppm;
- ▲, △ : mikroemulsi β karoten 12 ppm;

Gambar 3. Grafik laju kerusakan vitamin C dalam model 1 pada kondisi terang (A) dan gelap (B) dengan berbagai perlakuan penambahan β-karoten

Tabel 2. Efektivitas mikroemulsi β-karoten dalam menghambat kerusakan fotooksidatif vitamin C pada model 1

Sampel Model 1 pada Berbagai Perlakuan Penambahan β-Karoten	Laju Kerusakan Vitamin C (mg. L ⁻¹ . Jam ⁻¹)	
	Terang (A)	Gelap (B)
Kontrol	-17,9 ± 1,02 ^c	-6,4 ± 0,86 ^a
Mikroemulsi β karoten 6 ppm	-9,5 ± 2,48 ^a	-6,3 ± 0,75 ^a
Mikroemulsi (<i>empty microemulsions</i>)	-14,8 ± 1,69 ^b	-5,5 ± 1,77 ^a
β karoten langsung (<i>free β-carotene</i>) 6 ppm	-16,0 ± 1,64 ^{bc}	-5,4 ± 0,76 ^a

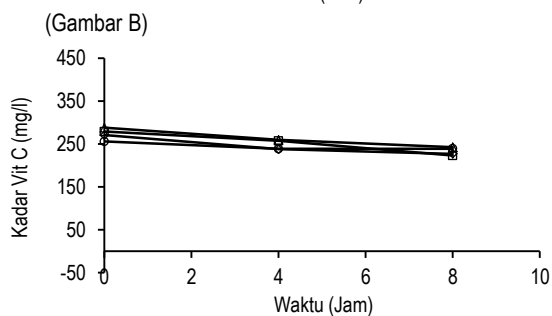
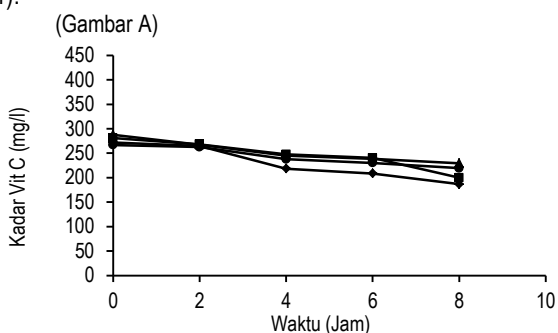
Ket: Huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi 95%

Efektivitas mikroemulsi β-karoten dalam menghambat kerusakan fotooksidatif vitamin C pada model minuman rasa jeruk dengan Sensitizer 5 ppm eritrosin (Model 2)

Berdasarkan penelitian pendahuluan yang telah dilakukan pewarna tartrazin maupun sunset yellow yang terdapat dalam

minuman rasa jeruk terbukti tidak memperlihatkan efek sensitasi, oleh karena itu ditambahkan eritrosin sebagai sensitizer. Konsentrasi eritrosin yang digunakan 5 ppm, karena pada konsentrasi ini warna eritrosin tidak mempengaruhi warna minuman rasa jeruk tersebut sehingga masih terlihat seperti warna aslinya.

Penghambatan kerusakan fotooksidatif vitamin C model 2 oleh mikroemulsi β karoten berbagai konsentrasi dapat dilihat pada Gambar 4 dan Tabel 3. Gambar 4 memperlihatkan bahwa eritrosin 5 ppm yang ditambahkan pada model minuman rasa jeruk mampu memberikan efek sensitasi dan sebagaimana dalam model 1, dalam model 2 ini mikroemulsi β -karoten juga hanya memiliki aktivitas antifotooksidatif dan tidak memperlihatkan aktivitas antiautooksidatif. Mikroemulsi β -karoten 6 dan 12 ppm dalam model 2 memperlihatkan aktivitas antifotooksidatif yang tidak berbeda nyata, hal ini sejalan dengan kemampuan antifotooksidatifnya dalam model 1 (Tabel 1).



Keterangan :

- ◆, ◇ : Kontrol
- , □ : mikroemulsi β karoten 0 ppm;
- , ○ : mikroemulsi β karoten 6 ppm;
- ▲, △ : mikroemulsi β karoten 12 ppm

Gambar 4. Grafik laju kerusakan vitamin C dalam model 2 pada kondisi terang (A) dan gelap (B) dengan berbagai konsentrasi mikroemulsi β -karoten

Tabel 3. Potensi mikroemulsi β -karoten dalam menghambat kerusakan fotooksidatif vitamin C pada model 2

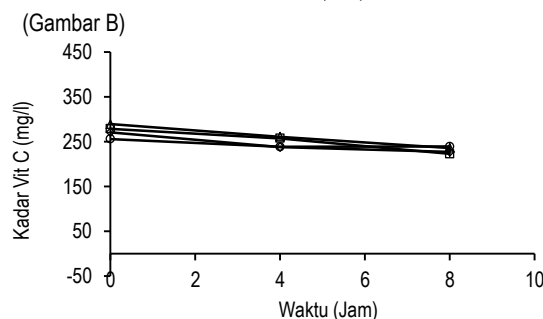
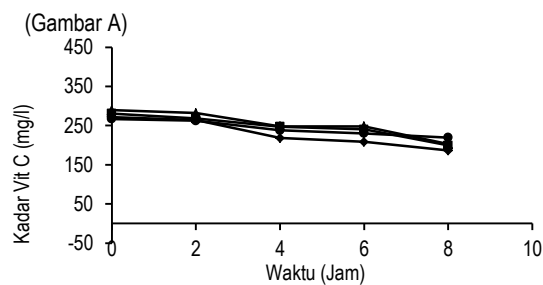
Sampel Sistem Model 2 pada Berbagai Konsentrasi Mikroemulsi β -Karoten	Laju Kerusakan Vitamin C (mg. L ⁻¹ . Jam ⁻¹)	
	Terang (A)	Gelap (B)
Kontrol	-11,3 ± 0,18 ^b	-5,6 ± 0,71 ^a
Mikromulsi β karoten 0 ppm	-9,5 ± 1,23 ^b	-6,0 ± 0,93 ^a
Mikroemulsi β karoten 6 ppm	-6,4 ± 1,58 ^a	-5,6 ± 1,02 ^a
Mikroemulsi β karoten 12 ppm	-7,3 ± 0,55 ^a	-5,2 ± 1,10 ^a

Ket: Huruf yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi 95%

Dalam model 2 ini, mikroemulsi β -karoten 0 ppm tidak memperlihatkan aktivitas penghambatan fotooksidasi vitamin C, meskipun dalam model 1 memperlihatkan aktivitas tersebut (Tabel 1). Hal ini dimungkinkan karena konsentrasi sensitizer pada model 2 jauh lebih kecil (1/4 nya). Berdasarkan penelitian pada model 1 (Gambar 2), mengindikasikan bahwa penghambatan fotooksidasi vitamin C oleh mikroemulsi terkait dengan kemampuannya dalam mengurangi efek sensitasi eritrosin. Karena dalam model 2 ini eritrosinnya jauh lebih kecil, mengakibatkan aktivitas penghambatan fotooksidasi vitamin C oleh mikroemulsi tidak dapat terdeteksi. Selain itu, hal ini dimungkinkan juga karena tingkat kerusakan fotooksidatif vitamin C dalam model 2 jauh lebih rendah dibanding model 1.

Laju kerusakan fotooksidatif vitamin C dalam model 2 mencapai 11,339 mg/l jam, sedangkan dalam model 1 mencapai 17,931 mg/l jam. Hal ini dikarenakan kadar vitamin C (substrat) pada model 2 juga lebih kecil dibanding model 1, yaitu 282 ± 7,3 mg/l dalam model 2 dan 401 ± 10,1 mg/l dalam model 1, sehingga laju kerusakan fotooksidatif yang terjadi juga lebih kecil (Yatella, Min, 2008). Fenomena ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Yang *et al.* (2002), Lee *et al.* (1988), Lee *et al.* (1990), dan Li *et al.* (2000) yang menyatakan bahwa makin tinggi konsentrasi substrat minyak maka kerusakan fotooksidatifnya semakin tinggi.

Gambar 5 dan Tabel 4 memperlihatkan bahwa dalam model 2 ini mikroemulsi β -karoten, mikroemulsi maupun β -karoten langsung tidak memperlihatkan peranan sebagai antioksidan pada kondisi gelap. Hal ini sejalan dengan hasil yang ditunjukkan pada model 1.



Keterangan :

- ◆, ◇ : Kontrol
- , □ : mikroemulsi β karoten 0 ppm;
- , ○ : mikroemulsi β karoten 6 ppm;
- ▲, △ : mikroemulsi β karoten 12 ppm

Gambar 5. Grafik laju kerusakan vitamin C dalam model 2 pada kondisi terang (A) dan gelap (B) dengan berbagai perlakuan penambahan β -karoten

Tabel 4. Efektivitas mikroemulsi β -karoten dalam menghambat kerusakan fotooksidatif vitamin C model 2

Sample Model 2 pada Berbagai Perlakuan Penambahan β - Karoten	Laju Kerusakan Vitamin C (mg. L ⁻¹ . Jam ⁻¹)	
	Terang (A)	Gelap (B)
Kontrol	-11,4 ± 0,18 ^b	-5,6 ± 0,71 ^a
Mikroemulsi β karoten 6 ppm	-6,4 ± 1,58 ^a	-5,6 ± 1,02 ^a
Mikroemulsi (<i>empty microemulsions</i>)	-9,5 ± 1,23 ^b	-6,0 ± 0,93 ^a
β karoten langsung (<i>free β-carotene</i>) 6 ppm	-10,3 ± 0,46 ^b	-6,3 ± 0,72 ^a

Ket: Huruf yang sama dalam **kolom** yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi 95%

Data pada Tabel 4 menunjukkan bahwa dalam model 2 hanya mikroemulsi β -karoten 6 ppm saja yang memperlihatkan kemampuan penghambatan kerusakan fotooksidatif vitamin C, sedang perlakuan mikroemulsi saja maupun *free β carotene* memiliki laju kerusakan fotooksidatif vitamin C yang tidak berbeda nyata dengan kontrol atau tidak memperlihatkan aktivitas antifotooksidatif. Sebaliknya, dalam model 1, perlakuan mikroemulsi saja memperlihatkan aktivitas penghambatan fotooksidasi meskipun perlakuan *free β - carotene* juga tidak memperlihatkan aktivitas tersebut. Mikroemulsi tidak memperlihatkan aktivitas penghambatan fotooksidasi vitamin C model 2 terkait dengan kadar eritrosinnya dan tingkat kerusakan fotooksidatif yang jauh lebih kecil dibanding model 1.

Kenampakan model 2 dengan berbagai perlakuan penambahan β -karoten yang dipapar cahaya fluoresen 2000 lux pada kondisi terang maupun gelap (dibungkus al-foil) sama dengan pada model dengan sensitizer 20 ppm (model 1), yaitu selama perlakuan pemaparan cahaya fluoresen dispersi mikroemulsi β karoten tetap stabil, ditunjukkan dengan tidak adanya pemisahan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa dalam model minuman rasa jeruk yang lebih kompleks dibanding model 1, mikroemulsi β -karoten masih memperlihatkan kemampuan penghambatan kerusakan fotooksidatif vitamin C.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa mikroemulsi β -karoten hanya memperlihatkan kemampuan penghambatan oksidasi vitamin C sistem aqueous pada kondisi terang. Potensi penghambatan kerusakan fotooksidatif vitamin C pada pangan aqueous oleh mikroemulsi β -karoten 6 ppm tidak berbeda nyata dengan mikroemulsi β -karoten 12 ppm. Mikroemulsi β -karoten 6 ppm memperlihatkan potensi penghambatan kerusakan fotooksidatif vitamin C pada kedua model pangan aqueous dan terbukti stabil terhadap iluminasi cahaya fluoresen 2000 lux selama 8 jam.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini terselenggara atas dukungan penyediaan dana insentif riset terapan oleh Kementerian Negara Riset dan Teknologi tahun 2008-2009.

DAFTAR PUSTAKA

- Beutner S, Bloedorn B, Hoffman T and Martin HD. 2000. Synthetic Singlet Oxygen Quenchers. Dalam Packer L, Sies H (Eds). *Methods In Enzymology*. P 226 – 241. Academic Press. New York.
- Choe E, Min DB. 2006. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *CRFSFS* 5:169 – 186. Conrad KR, Davidson VJ, Mulholland DL, Britt IJ and Yada S. 2005. Influence of PET and PET/PEN blend packaging on ascorbic acid degradation and color in juices expose to fluorescent and UV light. *J Food Sci* 70:E19 – E 25.
- De Azeredo HMC, Faria JAF, Da Silva MAA. 2003. The efficiency of TBHQ, β -carotene, citric acid, and tinuvin 234@ on the sensory stability of soybean oil packaged in PET bottles. *J Food Sci* 68:302 – 306.
- Edge R, Garvey MC, Truscott TG. 1997. The carotenoids as antioxidants-a review. *J Photochem Photobiol B* 41:189 – 200.
- Flanagan J, Singh H. 2006. Microemulsions: a potential delivery system for bioactive in food. *Crit Rev Food Sci Nutr* 4:221– 237.
- Gama JJT, Maria de Sylos C. 2005. Major carotenoid composition of brazilian valencia orange juice: identification and quantification by HPLC. *Food Res Int* 38:899–903.
- Jung MY, Kim SK, Kim SY. 1995. Riboflavin-sensitized photodynamic uv spectrometry for ascorbic acid assay in beverages. *J Food Sci* 60:360–368.
- Jung MY, Choe E, Min DB. 1991. α -, γ and δ -tocopherol effects on chlorophyll photosensitized oxidation of soybean oil. *J Food Sci* 56:807 – 810.
- Kobayashi M, Sakamoto Y. 1999. Singlet oxygen quenching ability of astaxanthin esters from the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Biotech Lett* 21:265 – 269.
- Lee EC, Min DB. 1988. Quenching mechanism of β -carotene on the chlorophyll sensitized photooxidation of soybean oil. *J Food Sci* 53:1894 – 1895.
- Lee JH. 2002. Photooxidation and Photosensitized Oxidation of Linoleic Acid, Milk, and Lard. Dissertation. The Ohio State University, Columbus, Ohio, U.S.A.
- Lee KH, Jung MY, Kim SY. 1997. Quenching mechanism and kinetics of ascorbyl palmitate for the reduction of the photosensitized oxidation of oils. *J Am Oil Chem Soc* 74:1053 – 1057.
- Lee SH, Min DB. 1990. Effects, quenching mechanism and kinetics of carotenoids in chlorophyllsensitized photooxidation of soybean oil. *J Agric Food Chem* 38:1630 – 1634.
- Li TL, King JM, Min DB. 2000. Quenching mechanisms and kinetics of carotenoids in riboflavin photosensitized singlet oxygen oxidation of vitamin D2. *J Food Biochem* 24:477 – 492.
- Min DB, Boff JM. 2002. Chemistry and reaction of singlet oxygen in foods. *CRFSFS* 1:58 – 72.

- Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M. 2001. Antioxidants in Food. CRC Press. Boca Raton Boston New York Washington, DC.
- Sibuea P. 2005. Mekanisme Quenching Oksigen Singlet oleh Kuersetin dan Peran Emulsifier terhadap Stabilitas Oksidatif Emulsi Minyak dalam Air. Disertasi, Ilmu Pangan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Solomon O, Svanberg U, Sahlstrom A. 1995. Effect of oxygen and fluorescent light on the quality of orange juice during storage at 8°C. *J Food Chem* 53:363 – 368.
- Spornath A, Yagmur A, Aserin A, Hoffman RE, Garti N. 2003. Self-diffusion nuclear magnetic resonance, microstructure transitions, and solubilization capacity of phytosterol and cholesterol in Winsor IV food-grade microemulsions. *J Agric Food Chem* 51:2359 – 2364.
- Yang WT, Lee JH, Min DB. 2002. Quenching mechanism and kinetics of α -tocopherol and β -carotene on the photosensitizing effect of synthetic food colorant FD&C red No. 3. *J Food Sci* 67:507 – 510.
- Yettella RR, Min DB. 2008. Quenching mechanisms and kinetics of Trolox and ascorbic acid on the riboflavin-photosensitized oxidation of tryptophan and tyrosine. *J Agric Food Chem* 56:10887 – 10892.
- Zhang H, Shen Y, Bao Y, He Y, Feng F, Zheng X. 2008. Characterization and synergistic antimicrobial activities of food-grade dilution-stable microemulsions against *Bacillus subtilis*. *Food Res Int* 41: 495-499.