

PENGARUH KADAR MINYAK TERHADAP EFEKTIVITAS ANTIOKSIDAN DALAM SISTEM EMULSI OIL-IN-WATER

[The Effect of Oil Concentration on the Antioxidants Effectivity
in Oil-In-Water Emulsion System]

Feti Fatimah¹⁾, Dedi Fardiaz²⁾, Anton Apriyantono³⁾, dan Nuri Andarwulan³⁾

¹⁾ Staf pengajar FIMIPA-UNSRAT, Manado

²⁾ Guru Besar FATETA-IPB, Bogor

³⁾ Staf Pengajar FATETA-IPB, Bogor

Diterima 22 Desember 2004 /Disetujui 11 April 2005

ABSTRACT

The oxidation of lipids in emulsified form is more complex than that in bulk lipids. In the emulsified form, there are more variables influencing lipid oxidation, including oil concentration, type and concentration of emulsifier, pH and buffer system. The aim of this research was to study the effect of corn oil concentration on antioxidant effectivity of Oil-In-Water emulsion system.

The effectiveness of antioxidants in the system were determined by Rancimat. Hydroperoxides content was also determined during five days of oxidation. The polarity of antioxidant was measured by determining the partition coefficient in octanol-water system (1:1). The partition coefficient of butylated hydroxy toluene (BHT) was 10.19 (90.0%), α -tocopherol was 8.44 (89.4%), t-butylhydroquinone (TBHQ) was 3.98 (79.9%), hydroquinone was 1.60 (61.5%), Trolox was 0.47 (32.0%) and gallic acid was 0.04 (4.4%).

The increase of oil proportion from 10% to 50% in emulsion system improved the oxidative stability of emulsion. The lower antioxidant polarity could increase the effectiveness of antioxidant in emulsion system with 10% corn oil proportion. The effectiveness of antioxidant was not absolutely depended on the order of polar paradox. The effectiveness was more influenced by its hydrogen donating capability and physicochemical properties of the emulsion system.

Key words: Antioxidant, emulsion, corn oil, polarity, partition coefficient polar paradox

PENDAHULUAN

Emulsi merupakan sistem koloid yang relevan dalam bahan pangan, kosmetik maupun obat-obatan. Sebagaimana pada sistem minyak utuh, reaksi oksidasi lipid juga dapat terjadi dalam sistem emulsi. Schwarz et al., (2000) menunjukkan bahwa pada beberapa kasus, oksidasi lipid lebih mudah terjadi pada sistem emulsi dibandingkan dalam sistem minyak utuh. Periode induksi emulsi juga dilaporkan lebih cepat dibandingkan sistem minyak utuh (Huang et al., 1996c).

Salah satu teknik yang sering digunakan dalam mencegah terjadinya oksidasi pada sistem berlipid adalah aplikasi antioksidan. Penggunaan antioksidan pada sistem berlipid bertujuan untuk meminimalkan ketengikan, menghambat pembentukan produk oksidasi serta memperpanjang masa simpan makanan.

Beberapa peneliti telah mempelajari perbedaan antara aktivitas antioksidan pada minyak utuh dan pada sistem emulsi (Frankel et al., 1994, Frankel et al., 1996, Huang et al., 1994, Huang et al., 1996a, Huang et al.,

1996c). Beberapa hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa antioksidan hidrofilik lebih efektif dari pada antioksidan lipofilik dalam minyak utuh, tetapi antioksidan lipofilik lebih efektif dalam sistem emulsi.

Asam galat, asam askorbat dan trolox dilaporkan merupakan antioksidan yang lebih baik daripada antioksidan lipofilik analognya yaitu ester galat, askorbil palmitat dan α -tokoferol dalam minyak utuh, tetapi kurang aktif dalam sistem emulsi (Frankel et al., 1994). Trolox merupakan antioksidan yang kurang efektif dari α -tokoferol dalam sistem emulsi minyak jagung atau metil linoleat dengan adanya polioksietilena sorbitan monolaurat (Tween 20) (Huang et al., 1996b). Data tersebut sesuai dengan aturan "polar paradox" yang diajukan oleh Porter dalam Frankel et al., (1994) yaitu antioksidan yang bersifat polar lebih baik digunakan dalam mencegah oksidasi pada minyak utuh, dibandingkan dalam sistem emulsi dan sebaliknya.

Meskipun telah banyak penelitian mengenai perbandingan aktivitas antioksidan dalam minyak utuh dan dalam sistem emulsi, tetapi belum ada penelitian yang

komprehensif tentang stabilitas oksidatif serta efektivitas antioksidan pada sistem emulsi dengan berbagai kondisi yang mendekati sistem pangan riil. Oleh karena itu, dalam penelitian ini akan dipelajari pengaruh proporsi minyak air terhadap stabilitas oksidatif sistem emulsi serta menguji hubungan antara polaritas antioksidan dan efektivitasnya dalam sistem emulsi tersebut.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan-bahan yang digunakan asam galat (Sigma), hidrokuinon (Sigma), TBHQ (Sigma), BHT (Sigma), α -tokoferol (Sigma) dan Trolox (Sigma), polioksietilena sorbitan monooleat (Sigma), akuades, 1-oktanol p.a.(Merck), minyak jagung dari Super Market, celit 545 p.a.(Merck), *n*-heksana p.a.(Merck), asam silikat p.a.(Merck), dietil eter p.a.(merck), metanol p.a.(Merck); isooktana p.a.(Merck); arang aktif p.a.(Merck), guaran (Lucid Colloids LTd).

Alat-alat yang digunakan 1 set kolom kromatografi, 1 set alat Rancimat Metrohm 743, Ultra Turax IKA T25 Homogenizer, Spektrofotometer UV-Vis Shimadzu-160, 1 set HPLC Hewlet Packard Series 110, Shaker New Brunswick Scientific Edison C25KC Incubator, 1 set Mikroskop Olympus BH-2 dilengkapi dengan kamera Olympus C-35AD-4, serta alat-alat gelas lainnya

Prosedur kerja

Pemisahan tokoferol dari minyak jagung

Untuk mendapatkan minyak jagung bebas tokoferol, digunakan metoda Kulas and Ackman (2001) yang telah dikombinasikan dengan teknik Shiota and Tatsumi (2002). Teknik pemisahan ini dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom dengan fase diam arang aktif, silika gel, celit dan sukrosa serta *n*-heksana sebagai eluen. *Recovery* minyak yang dihasilkan sekitar 70%. Analisis kandungan α -tokoferol dari minyak dilakukan menggunakan HPLC berdasarkan metode Psomiadou & Tsimidou (1988). Kadar α -tokoferol dihitung berdasarkan rumus:

Konsentrasi α -tokoferol sampel = $A_1/A_2 \times$ konsentrasi α -tokoferol standar

A_1 = Luas area puncak α -tokoferol sampel; A_2 = Luas area puncak α -tokoferol standar

Penentuan koefisien partisi antioksidan

Penentuan koefisien partisi dilakukan berdasarkan metode Nenadis et al., (2003) dan Foti et al., (1996). Masing-masing larutan antioksidan (0,05 mM)

dilartukan dalam 1-oktanol dan diukur absorbansinya menggunakan spektrometer UV (A_o), serta absorbansi setelah dipartisikan dengan air (A_x). Koefisien partisi (P) dihitung berdasarkan rumus: $P = A_x / (A_o - A_x)$ atau $P = A_x / A_o \cdot 100\%$. Jenis-jenis antioksidan yang dianalisis yaitu: asam galat, hidrokuinon, TBHQ, BHT, α -tokoferol dan trolox.

Penentuan jenis dan konsentrasi pengemulsi

Jenis pengemulsi yang diuji adalah sorbitan monolaurat/ Span 20 (*Hydrophile-Lipophile balance* (HLB) = 8,6), Polioksietilena sorbitan tristearat/Tween 60 (HLB = 10,5), polioksietilena sorbitan monooleat/Tween 80 (HLB = 15) serta polioksietilena sorbitan monolaurat/Tween 20 (HLB = 16,7). Konsentrasi pengemulsi yang diuji yaitu 0,1; 0,5; 1,0; dan 1,5%. Stabilitas emulsi diuji berdasarkan waktu paling lama yang dibutuhkan terjadinya pemisahan fasa.

Pengujian aktivitas antioksidan dalam sistem emulsi

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan mengukur pembentukan hidroperoksida diena terkonjugasi selama 5 hari dan mengukur periode induksi dengan Rancimat. Penentuan konsentrasi hidroperoksida didasarkan pada metode Chan & Levett dalam Frankel et al., (1996). Sebanyak 10 g sampel emulsi dimasukkan dalam tabung Erlenmeyer bertutup 50 mL dan dioksidasi dalam *shaker* pada 60°C dan 120 rpm serta diamati pembentukan hidroperoksida selama 5 hari. Sebanyak 0,1 g sampel emulsi yang telah dioksidasi dalam *shaker* pada 60°C dan 120 rpm, diekstraksi dengan campuran metanol dan heksana. Fraksi heksana dikumpulkan dan dievaporasi kemudian dilarutkan dalam 5 mL isooktana dan diukur absorbansinya pada 234 nm. Hasilnya dihitung sebagai konsentrasi hidroperoksida dalam mmol/Kg minyak (Hopia et al., dalam Frankel et al., 1996). Konsentrasi hidroperoksida dihitung dengan rumus Lambert-Beer ($\xi = 26000$ untuk hidroperoksida metil linoleat). Sistem emulsi yang digunakan yaitu: Sistem emulsi o/w dengan kadar minyak jagung: 10, 30 dan 50% dengan konsentrasi pengemulsi 1% dan konsentrasi guaran 0,5%.

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Kimia dan Biokimia, Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi serta laboratorium Kimia Pangan dan Gizi, Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.

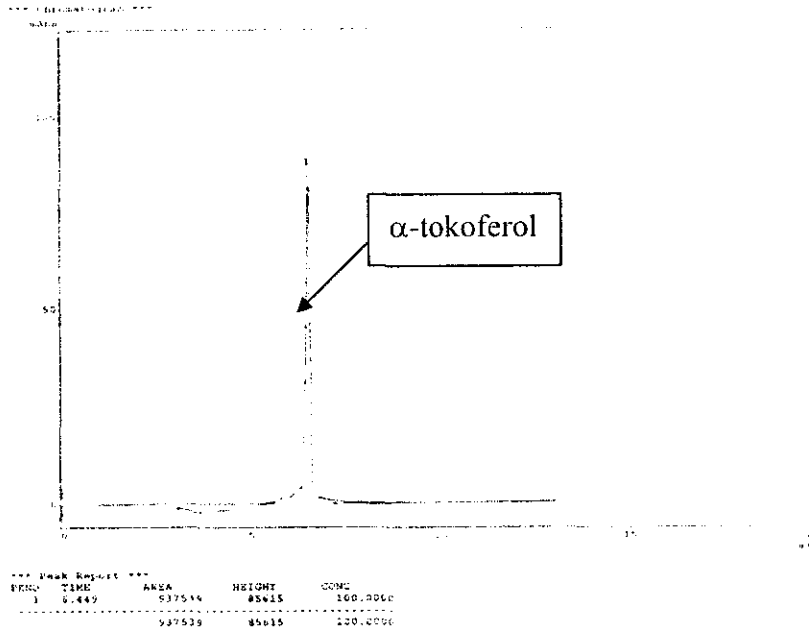
HASIL DAN PEMBAHASAN

Minyak jagung bebas α -tokoferol

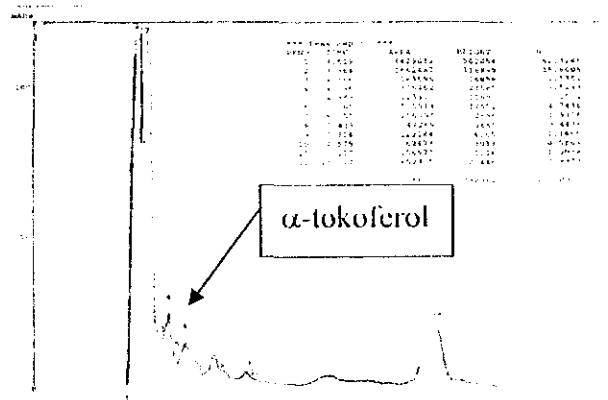
Minyak jagung yang digunakan dalam penelitian ini, terlebih dahulu dihilangkan komponen antioksidan alaminya, karena dapat berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan yang akan diuji. Pengaruh tersebut dapat berupa efek peningkatan maupun penurunan aktivitas (sinergis atau antagonis). Hasil analisis HPLC terhadap minyak sebelum dan setelah kolom disajikan pada Gambar

2-3, sedangkan luas area kromatogram dan konsentrasi α -tokoferol dari minyak jagung sebelum dan setelah kolom disajikan pada Tabel 1.

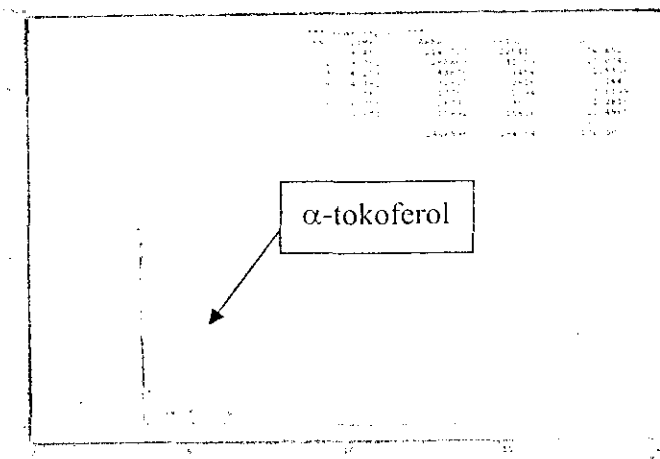
Berdasarkan data kromatogram HPLC (Gambar 1, 2 dan 3) dan Tabel 1, diketahui bahwa kandungan α -tokoferol sebelum kolom yaitu 22 ppm dan setelah kolom 1 ppm. Jadi terdapat penurunan α -tokoferol sebesar 21 ppm atau 95%.



Gambar 1 Kromatogram α -tokoferol standar 100 ppm



Gambar 2 Kromatogram HPLC minyak pra kolom



Gambar 3 Kromatogram HPLC post kolom dengan pemekatan 4x

Tabel 1. Luas area dan konsentrasi α-tokoferol standar serta minyak jagung sebelum dan setelah kolom

Sampel	Luas area Kromatogram HPLC	Konsentrasi (ppm)
α-Tokoferol standar	937539	100
Minyak sebelum kolom	206053	22
Minyak setelah kolom	36737	1

Bila kromatogram HPLC sampel minyak jagung sebelum dan setelah kolom dibandingkan, maka tampak profil puncak-puncak dalam kedua kromatogram hampir sama dan hanya berbeda pada konsentrasinya. Hal tersebut menunjukkan bahwa teknik pemisahan dengan kolom bukan hanya menurunkan konsentrasi α-tokoferol saja, tetapi juga komponen-komponen tidak tersabunkan lain seperti γ-Tokoferol, β-karoten dan lainnya. Menurut Kulas dan Ackman (2001), teknik pemisahan tersebut disamping menghilangkan komponen antioksidan, juga menghilangkan kandungan komponen-komponen yang lebih polar seperti mono- dan diasil gliserol serta produk oksidasi.

Koefisien partisi antioksidan

Senyawa BHT, α-tokoferol dan TBHQ dikenal sebagai antioksidan yang bersifat non polar. Senyawa-senyawa tersebut mempunyai gugus hidrofobik seperti gugus t-butil (BHT dan TBHQ) serta gugus pital untuk α-tokoferol. Nilai P (koefisien partisi) yang disajikan pada Tabel 2 menunjukkan bahwa BHT mempunyai koefisien partisi yang lebih besar dari pada α-tokoferol. Hal tersebut diduga berhubungan dengan terdapatnya 2 gugus t-butil pada BHT. Posisi kedua gugus t-butil pada BHT lebih merintangi gugus hidroksil (OH) dibandingkan t gugus pital

pada α-tokoferol sehingga menghalangi terjadinya ikatan hidrogen dengan air, dan akibatnya menurunkan kelarutannya dalam air.

Dari berbagai kelompok antioksidan yang bersifat asam (trolox dan asam gallat), maka asam gallat yang mempunyai nilai koefisien partisi terendah. Hal tersebut disebabkan terdapatnya tiga gugus hidroksil yang dimiliki oleh asam gallat. Bila hasil penelitian dibandingkan dengan hasil penelitian Nenadis et al., (2003), maka untuk beberapa koefisien partisi antioksidan ini tidak jauh berbeda seperti trolox=0,49 (28,7%), α-tokoferol=6,67 (87,1%), BHA=10,3 (91,7%) serta BHT=12,1 (92,6%). Berdasarkan Tabel 2 tersebut, maka bila efektivitas antioksidan dalam semua sistem emulsi ini mengikuti aturan polar paradox, maka urutan efektivitasnya adalah sebagai berikut: BHT>α-tokoferol>TBHQ >hidrokuinon>trolox>asam galat.

Jenis dan konsentrasi pengemulsi

Dalam penelitian ini, jenis pengemulsi yang dipilih dalam pembuatan emulsi mempunyai nilai HLB 8,6 sampai 16,7. Hal ini didasarkan pada pendapat Belitz dan Grosch (1999) dan Nawar (1985), bahwa HLB pengemulsi yang dapat menghasilkan sistem emulsi oil-in water adalah 8-18.

Berdasarkan data pada Tabel 3, diketahui bahwa emulsi dengan kadar minyak jagung 30% dapat terbentuk dengan adanya Tween 20 atau 80 pada konsentrasi 0,5% dan stabilitas emulsi meningkat dengan bertamahnya nilai HLB. Emulsi tidak dapat dihasilkan menggunakan pengemulsi dengan nilai HLB yang rendah yakni span 20 (HLB=8,6) dan Tween 60 (HLB=10,5). Emulsi yang dibuat menggunakan Tween 80 (HLB 15) dan Tween 20 (HLB 16,7) dapat terbentuk dan stabil sampai hari-hari. Menurut Kamel (1991), emulsi oil-in water lebih baik dibuat dengan

pengemulsi dengan nilai HLB yang lebih tinggi. Selanjutnya menurut Belitz dan Grosch (1999), pengemulsi memiliki bagian hidrofilik yang mengelilingi sisi luar droplet emulsi. Bila nilai HLB pengemulsi tinggi, pengemulsi lebih hidrofilik sehingga cukup kuat untuk terjadinya tolak menolak dengan bagian hidrofilik dari pengemulsi dalam droplet lainnya, sehingga droplet emulsi dapat terbentuk dan menghasilkan emulsi yang stabil.

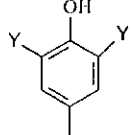
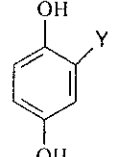
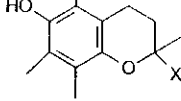
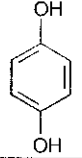
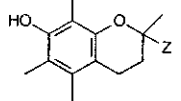
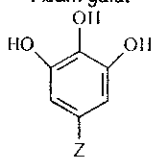
Meskipun emulsi dapat terbentuk dan stabil menggunakan Tween 80 (HLB 15) dan Tween 20 (HLB 16,7) tetapi stabilitas emulsi tidak dapat bertahan sampai waktu oksidasi 5 hari (dalam shaker suhu 60°C dan 120 rpm). Selanjutnya untuk menghasilkan emulsi yang stabil, selain digunakan pengemulsi, juga ditambahkan guaran/guar gum. Hasil percobaan dalam penelitian ini, penggunaan guaran dengan konsentrasi 0,5% menghasilkan emulsi yang lebih kental dan berakibat meningkatnya stabilitas emulsi. Hal ini disebabkan karena meningkatnya kekentalan fasa kontinyu (fasa air) akan membatasi mobilitas droplet emulsi (Belitz dan Grosch 1999).

Pengaruh kadar minyak jagung terhadap efektivitas antioksidan

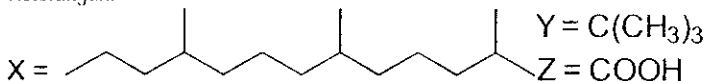
Konsentrasi antioksidan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 700 µM (301,7 ppm untuk α-tokoferol). Hal ini didasarkan pada hasil penelitian Huang et al., (1994), yang menunjukkan bahwa konsentrasi α-tokoferol yang efektif dalam minyak adalah 100 ppm, sedangkan dalam sistem emulsi minyak 10% adalah 250-500 ppm (580,5-1161 µM). Konsentrasi 700 µM setara dengan 302 ppm untuk α-tokoferol; 154 ppm untuk BHT; 116 ppm untuk TBHQ; 119 ppm untuk asam galat; 77 ppm untuk hidrokuinon dan 175 ppm untuk trolox.

Kondisi emulsi dengan kadar minyak 10,30 dan 50% disajikan pada Gambar 4 dan data konsentrasi hidroperoksida dari sistem tersebut disajikan pada Gambar 5,6 dan 7. Periode induksi merupakan waktu dimana terjadinya oksidasi meningkat dengan tajam (Gordon, 2001). Periode induksi hasil analisis rancimat terhadap 6 jenis antioksidan dalam sistem emulsi dengan kadar minyak 10, 30 dan 50% disajikan pada Tabel 4.

Tabel 2 Koefisien partisi antioksidan

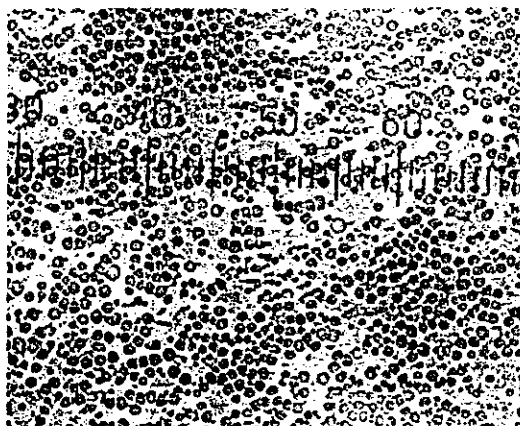
Antioksidan	Koefisien partisi rata-rata	Antioksidan	Koefisien partisi rata-rata
BHT OH Y 	10,19 (91,0%)	TBHQ OH Y 	3,98 (79,9%)
αTokoferol HO 	8,44 (89,4%)	Hidrokuinon OH 	1,60 (61,5%)
Trolox HO 	0,47 (32,0%)	Asam galat OH OH Z 	0,04 (4,4%)

Keterangan:

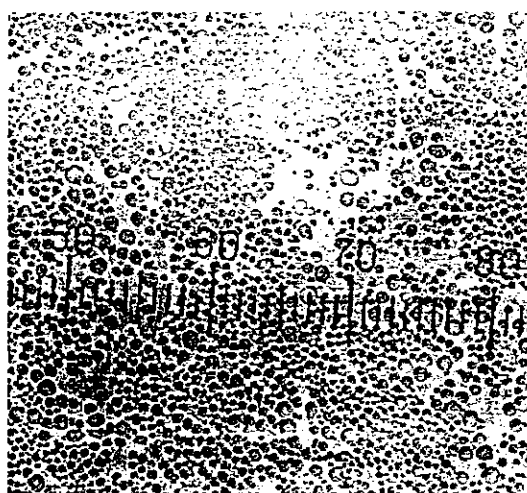


Tabel 3 Kondisi emulsi dengan kadar minyak 30% yang terbentuk menggunakan berbagai bahan dan konsentrasi pengemulsi

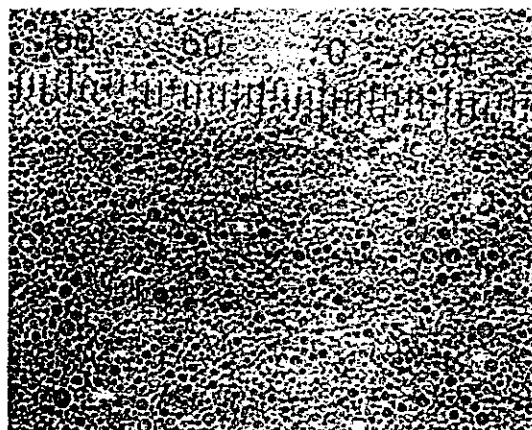
Jenis Pengemulsi (HLB)	Konsentrasi	Emulsi yang terbentuk	Waktu stabilitasi emulsi
Span 20 (HLB=8,6)	0,5%	Tidak terbentuk	
	1%	Tidak terbentuk	
	1,5%	Tidak terbentuk	
Tween 60 (HLB=10,5)	0,5%	Tidak terbentuk	
	1%	Tidak terbentuk	
	1,5%	Tidak terbentuk	
Tween 80 HLB=15	0,5%	Terbentuk	Hari-1
	1%	Terbentuk	Hari-3
	1,5%	Terbentuk	Hari-3
Tween 20 (HLB 16,7)	0,5%	Terbentuk	Hari-2
	1%	Terbentuk	Hari-3
	1,5%	Terbentuk	Hari-3
	2%	Terbentuk	Hari-3
	3%	Terbentuk	Hari-4
	4%	Terbentuk	Hari-4
	5%	Terbentuk	Hari-4
Tween 80 + guaran	0,5%;0,1%	Terbentuk	Hari-1
	0,5%;0,3%	Terbentuk	Hari-3
	0,5%;0,5%	Terbentuk	Hari-4
	1%;0,1%	Terbentuk	Hari-3
	1%;0,3%	Terbentuk	Hari-4
	1%;0,5%	Terbentuk	Hari-4
	Tween 20+ guaran	0,5%;0,1%	Terbentuk
0,5%;0,3%		Terbentuk	Hari-3
0,5%;0,5%		Terbentuk	Hari-4
1%;0,1%		Terbentuk	Hari-3
1%;0,3%		Terbentuk	Hari-4
1%;0,5%		Terbentuk	Stabil hari-5+



Emulsi dengan kadar minyak 10%

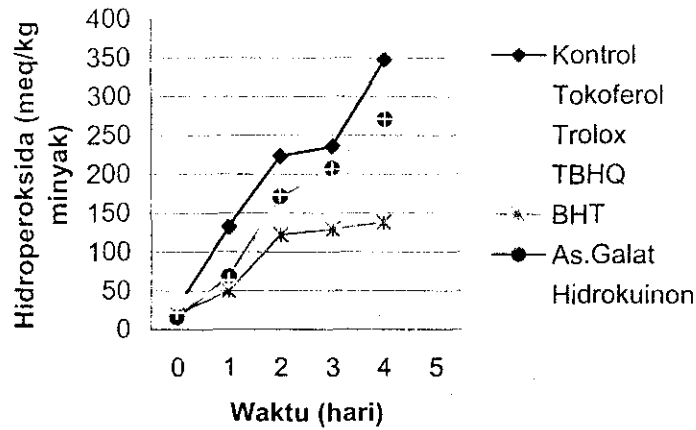


Emulsi dengan kadar minyak 30%

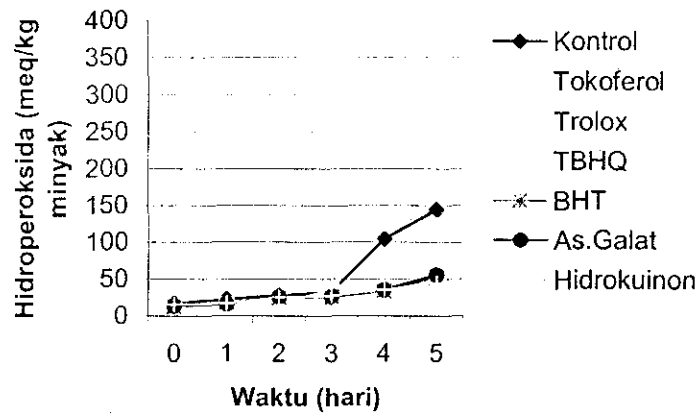


Emulsi dengan kadar minyak 50%

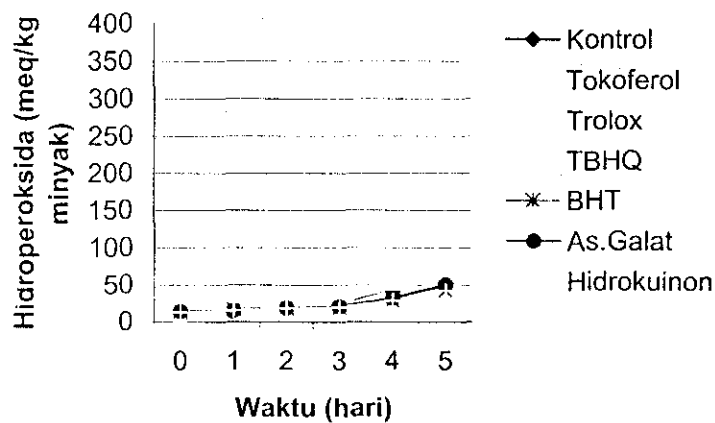
Gambar 4. Foto sistem emulsi dengan kadar minyak 10, 30 dan 50% menggunakan konsentrasi pengemulsi 1%.



Gambar 5 Grafik konsentrasi hidroperoksida sistem emulsi dengan kadar minyak 10% (konsentrasi pengemulsi 1%)



Gambar 6 Grafik konsentrasi hidroperoksida sistem emulsi dengan kadar minyak 30% (konsentrasi pengemulsi 1%)



Gambar 7 Grafik konsentrasi hidroperoksida sistem emulsi dengan kadar minyak 50% (konsentrasi pengemulsi 1%)

Tabel 4 Data periode induksi emulsi dengan kadar minyak 10, 30 dan 50% (konsentrasi pengemulsi 1%)

Jenis Antioksidan	Periode Induksi (jam)		
	Minyak 10%	Minyak 30%	Minyak 50%
Kontrol	4,50	7,76	9,00
BHT	6,53	8,70	10,71
Tokoferol	5,41	9,75	8,29
TBHQ	5,06	9,67	9,17
Hidrokuinon	4,81	9,30	10,67
Trolox	5,99	10,53	9,51
Asam Galat	5,07	8,07	9,02

Berdasarkan data pada Tabel 4 dan Gambar 5,6 dan 7, dapat dikemukakan bahwa proses oksidasi lebih cepat terjadi pada emulsi dengan konsentrasi minyak yang lebih rendah. Bila ditinjau dari kadar minyak, maka seharusnya kerusakan minyak paling cepat terjadi pada emulsi dengan kadar minyak 50% karena sumber pembentukan hidroperoksida berasal dari linoleat dalam minyak. Tetapi yang terjadi sebaliknya, hal tersebut menunjukkan bahwa oksidasi tidak ditentukan oleh banyaknya minyak tetapi oleh kondisi emulsi.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa viskositas emulsi yang dibuat dari minyak dengan kadar 10% lebih rendah dibandingkan dengan emulsi dengan kadar minyak 30% dan emulsi yang dibuat dengan minyak 50% bersifat paling kental. Perbedaan kekentalan adalah berhubungan dengan meningkatnya jumlah droplet yang terbentuk seperti terlihat pada Gambar 4. Diamati pula bahwa emulsi yang dibuat dengan kadar minyak 10% kurang stabil dibandingkan emulsi dengan kadar minyak 30 dan 50%. Emulsi dengan kadar minyak 10% hanya bertahan sampai hari-4, pada hari-5 sudah terjadi pemisahan fasa.

Dengan demikian reologi emulsi sangat berpengaruh terhadap stabilitas emulsi serta berpengaruh pada laju reaksi oksidasi. Sehubungan dengan hal itu, Huang et al., (1996b), menyatakan bahwa penurunan viskositas emulsi akan meningkatkan laju reaksi oksidasi oleh karena terjadinya tumbukan dan sirkulasi ke permukaan menjadi lebih besar. Menurut Raymundo et al., (2002), peningkatan kadar minyak akan meningkatkan reologi emulsi serta menurunkan diameter droplet emulsi. Disamping itu, emulsi dengan kadar minyak 10% mempunyai fasa kontinyu (*aqueous*) paling besar karena droplet yang terbentuk lebih sedikit, sehingga memudahkan terjadinya penetrasi inisiator oksidasi yang larut air masuk dalam sistem dan berakibat pada mudahnya sistem mengalami oksidasi. Penurunan stabilitas oksidatif dengan menurunnya kadar minyak dalam emulsi juga telah dilaporkan oleh Osborn dan Akoh (2004) dan McClemets & Decker (2000). Dikatakan bahwa

Jika konsentrasi droplet dalam sistem emulsi menurun, maka radikal yang dihasilkan per droplet bertambah.

Peningkatan daerah fasa kontinyu berperan dalam meningkatkan difusi oksigen yang terlarut dalam air (Kochhar 1993). Pada sistem emulsi dengan kadar minyak rendah, daerah fasa kontinyu menjadi lebih luas, sehingga interaksi antara droplet dan oksigen yang terlarut dalam air menjadi lebih besar. Hal tersebut menyebabkan oksidasi lipid pada permukaan droplet terjadi lebih cepat. Menurut Pashley et al., (2005), kelarutan gas dalam air sangat dipengaruhi oleh tekanan dan suhu. Kelarutan gas terlarut dalam air pada suhu kamar adalah sekitar 1 mM atau sekitar 20 mL per liter air. Selanjutnya Pashley et al., (2005) menyatakan bahwa rendahnya kelarutan oksigen dalam air pada suhu ruang menyebabkan pengaruh air terhadap minyak dengan luas permukaan rendah adalah terbatas. Tetapi pada sistem emulsi, jumlah molekul oksigen yang terlarut sebanding dengan luas permukaan minyak per unit volume.

Pada sistem emulsi, molekul oksigen yang terlarut akan terakumulasi pada interfasa minyak-air. Hal tersebut terjadi karena molekul oksigen merupakan molekul non polar dan kecil kemampuannya untuk berinteraksi dengan molekul air. Terdapatnya permukaan hidrofobik dari droplet minyak akan menarik molekul gas yang terlarut dalam air. Akumulasi molekul gas juga dibantu oleh besarnya kelarutan gas dalam minyak. Berdasarkan uraian tersebut, maka dapat dimengerti bahwa meningkatnya fasa air sangat berperan dalam meningkatkan kelarutan oksigen pada daerah interfasa sehingga mengakibatkan rentannya lipid teremulsi terhadap reaksi oksidasi (Pashley et al., 2005).

Aturan *polar paradox* yang diajukan Porter dalam Frankel et al., (1994) menunjukkan bahwa dalam sistem emulsi, antioksidan yang bersifat non polar akan lebih efektif dibandingkan antioksidan yang bersifat polar. Untuk mengetahui apakah aturan *polar paradox* berlaku dalam sistem emulsi yang dibuat dengan kadar minyak 10, 30 dan 50%, maka dilakukan uji korelasi antara koefisien partisi masing-masing antioksidan dengan data periode induksi.

Berdasarkan hasil uji korelasi antara koefisien partisi antioksidan dan periode induksi pada sistem emulsi pada kadar minyak 10%, diperoleh nilai $r = 0,55$. Pada sistem emulsi dengan kadar minyak 30%, nilai $r = -0,06$ dan pada kadar minyak 50%, nilai $r = 0,05$. Bila nilai r untuk sistem emulsi yang dibuat dengan kadar minyak 10%, 30% dan 50% dibandingkan, maka terlihat bahwa pengaruh koefisien partisi atau polaritas terhadap efektivitas antioksidan hanya terjadi pada sistem emulsi dengan kadar minyak 10%. Sebaliknya, pada kadar minyak 30 dan 50%, polaritas antioksidan tidak berpengaruh terhadap efektivitasnya.

Pada kadar minyak yang lebih tinggi, yakni 30 dan 50%, aturan *polar paradox* tidak berlaku karena memberikan korelasi yang sangat rendah. Hal tersebut diduga berhubungan dengan keadaan emulsi, dimana pada sistem emulsi dengan kadar minyak yang lebih tinggi, sistem emulsi menjadi semakin non polar dan mendekati minyak utuh sehingga antioksidan non polar menjadi kurang efektif. Meskipun demikian, belum bisa dipastikan apakah aturan polar paradox berlaku untuk sistem emulsi dengan kadar minyak antara 10 sampai 30%.

Pada basis periode induksi (Tabel 2) dan pembentukan hidroperoksida (Gambar 1-3), trolox mempunyai efektivitas yang lebih tinggi dalam semua sistem emulsi dibandingkan α -tokoferol. BHT yang mempunyai nilai koefisien partisi paling tinggi juga menunjukkan efektivitas yang paling tinggi dalam sistem emulsi dengan kadar minyak 10 dan 50%. Asam galat yang mempunyai nilai koefisien partisi paling rendah, menunjukkan aktivitas paling rendah hampir dalam semua sistem emulsi. Hal tersebut menunjukkan bahwa efektivitas antioksidan tidak mutlak dipengaruhi hanya oleh polaritasnya saja.

Tingginya efektivitas antioksidan trolox dalam sistem emulsi dengan kadar minyak 10,30 dan 50% adalah karena kemampuan *hydrogen donatingnya*. Kemampuan mendonorkan atom hidrogen dari antioksidan dapat diketahui berdasarkan nilai energi disosiasi ikatan (BDE). Kemampuan mendonorkan atom hidrogen akan lebih tinggi pada antioksidan dengan nilai BDE lebih rendah. Nilai BDE trolox belum diketahui, diduga nilai BDE trolox sama dengan HMPC (6-hidroksi-2,2,5,7,8-pentametil kroman) yang mempunyai struktur sama dengan trolox, tetapi gugus COOH diganti dengan gugus CH₃. Nilai BDE HMPC adalah 78,25 kkal/mol (Lucarini et al., 1996). Menurut Lucarini et al., (1996), nilai BDE BHT dan tokoferol berturut-turut adalah 81,02 dan 78,23 kkal/mol. Nilai BDE TBHQ adalah 81,45 dan hidrokuinon adalah 83,20 kkal/mol (Lucarini et al., 2002), sedangkan asam galat adalah 79,98 kkal/mol (Leopandini 2004).

Menurut Ross et al., (1995), trolox sangat efektif sebagai antioksidan karena merupakan senyawa fenol

hindered dengan gugus oksigen eter dalam sistem cincin pada posisi para terhadap gugus OH sehingga dapat menstabilkan radikal fenoksil. Dengan adanya gugus kromanol yang dapat meningkatkan efektivitas antioksidan dan gugus karboksil yang berakibat meningkatnya kelarutannya dalam fasa air, maka trolox mempunyai keunggulan dibandingkan antioksidan lainnya yang hanya terlarut dalam fasa minyak saja. Sedangkan menurut Huang et al., (1996b), walaupun α -tokoferol merupakan donor hidrogen yang kuat, tetapi radikal α -tokoferil dan α -tokoquinoferyl yang terbentuk dapat berperan sebagai inisiator reaksi oksidasi. Disamping itu, α -tokoferil dapat juga bereaksi dengan oksigen membentuk α -tokoperoksil, sebaliknya hal itu tidak terjadi pada radikal penoksil trolox, sehingga efektivitas antioksidan trolox lebih tinggi dari pada α -tokoferol.

Walaupun BDE asam galat cukup rendah, tetapi karena polaritas asam galat sangat tinggi sehingga efektivitas antioksidannya sangat rendah. Sehubungan dengan hal itu, Heinonen et al., (1998) menyatakan bahwa efektivitas yang rendah dari asam galat disebabkan polaritasnya yang tinggi. Disamping itu, asam galat mempunyai sifat pereduksi yang tinggi sehingga dapat merubah ion tembaga menjadi keadaan valensi rendah yang berperan sebagai prooksidan.

Berdasarkan uraian di atas, diketahui bahwa meskipun faktor polaritas dan nilai BDE berperan terhadap efektivitas antioksidan, tetapi diduga terdapat faktor lain yang mempengaruhi efektivitasnya seperti karakteristik struktur antioksidan, sifat fisiko kimia emulsi serta terdapatnya interaksi spesifik antara molekul antioksidan dengan Tween 20 dan guaran. Hal tersebut terlihat dari bervariasinya efektivitas antioksidan dalam sistem emulsi dengan kadar minyak berbeda.

Tidak berlakunya aturan *polar paradox* secara konsisten juga telah dikemukakan oleh beberapa peneliti lain, seperti Schwarz et al., (2000) yang menyatakan bahwa terdapat interaksi yang spesifik antara antioksidan dan pengemulsi yang terletak pada daerah interfasa yang sangat berpengaruh terhadap efektivitas antioksidan dalam sistem emulsi. Menurut Heinonen et al., (1998), mekanisme antioksidan dalam sistem emulsi merupakan fenomena interfisial yang kompleks dimana senyawa polifenol hidrofilik terpartisi antara fasa air, minyak dan interfasa. Lebih lanjut Heinonen mengemukakan bahwa efektivitas antioksidan tidak hanya berhubungan dengan karakteristik strukturnya tetapi juga kemampuan berinteraksi dengan molekul pada daerah interfasa dimana oksidasi terjadi.

KESIMPULAN

Bertambahnya kadar minyak jagung dalam sistem emulsi dan 10 hingga 50% dapat meningkatkan stabilitas oksidatif sistem emulsi. Meningkatnya polaritas antioksidan berpengaruh terhadap penurunan efektivitas antioksidan pada sistem emulsi dengan kadar minyak jagung 10%, tetapi tidak berpengaruh pada sistem emulsi dengan kadar minyak 30 dan 50%. Secara umum, aturan *polar paradox* tidak diikuti oleh semua antioksidan dalam berbagai sistem emulsi. Polaritas antioksidan bukanlah satu-satunya faktor yang berpengaruh terhadap efektivitas antioksidan dalam sistem emulsi. Terdapat faktor lain seperti kemampuan mendonorkan atom hidrogen, interaksi antara molekul antioksidan dengan Tween 20 atau sifat fisiko kimia emulsi yang berpengaruh terhadap efektivitasnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Belitz, H.D. dan W.Grosch., 1999, Food Chemistry, Second Edition, Springer- Verlag Berlin.
- Chen, J.H., Chi-Tang Ho, 1997, Actioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid and its related hydroxycinnamic acids compounds, J. Agric. Food Chem., 45, 2374-2378.
- Foti, M., M.Piattelli, M.T.Baratta, G.Ruberto, 1996, Flavanoids, coumarins, and cinnamic acids as antioxidants in a micellar system: Structure-activity relationship, J. Agric. Food Chem, 44, 497-501.
- Frankel, E.N., S-W.Huang, J. Kanner, J.B.Bruce German, 1994, Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidant: bulk oil Vs emulsions, J. Agric. Food Chem., 42, 1054-1059.
- Frankel, E.N., S-W.Huang, R.Aeschbach, E.Prior, 1996, Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic Acid, carnosol, and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion, J. Agric. Food Chem., 44, 131-135.
- Gordon, M.H., 2001, Antioxidants and food stability, di dalam: Antioxidant in food, practical applications, Pokorny et al. (Editor), CRC Press, NewYork, 9.
- Heinonen, M., D.Rein, M.T.Satue-Gracia, Shu-Wen Huang, J.B.German, E.N.Frankel, 1998, Effect of protein on the activity of phenolic compounds in a lecithin-liposome oxidation system, J. Agric. Food Chem. 46, 917-922.
- Huang, S-W., K.Schwarz, E.N.Frankel, J.B.German, 1994, Antioxidant activity of α - and γ -tocopherols in bulk oils and in oil-in-water emulsions, J. Agric. Food Chem., 42, 2108-2114.
- Huang, S-W., A.Hopia, K.Schwarz, E.N.Frankel, J.B.German, 1996a, Antioxidant activity of α -tocopherol and trolox in different lipid substrates: bulk oils vs oil-in-water emulsions, J. Agric. Food Chem., 44, 444-452.
- Huang, S-W, E.N. Frankel, K.Schwarz, J.B.German, 1996b, 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. Aeschbach, J.B.German, 1999c, Antioxidant activity of carnosic acid and methyl carnosate in bulk oils and oil-in-water emulsions, J. Agric. Food Chem., 44, 2951-2956.
- Huang, S-W, E.N. Frankel, K.Schwarz R.Aeschbach, J.B.German, 1997, Partition of selected antioxidants in corn oil-water model systems, J.Agric.Food Chem., 45, 6.
- Jacobsen, C., M.Timm, A.S.Meyer, 2001, Oxidation in fish oil enriched mayonnaise: ascorbic acid and low pH increase oxidative deterioration, J. Agric. Food Chem., 49, 3947-3956.
- Kochhar, S.P., 1993, Oxidative Pathways to The Formation of Off-flavors, Saxby (editor), Blackie Academic & Professional, London.
- Kulas E., R.G.Ackman, 2001, Protection of α -tocopherol in nonpurified fish oil, 2001, JAOCS, Vol 78, No.2, 197-199.
- Leopoldini, M., T.Marino, N.Russo, M.Toscano, 2004, Antioxidant properties of phenolic compounds; H-atom versus electron transfer mechanism, J.phys.Chem.A, 108, 4916-4922.
- Lucarini, M., P.Pedrielli, G.F.Pedulli, 1996, Bond dissociation energies of O-H bonds in substituted phenols from equilibration studies, J.Org.Chem., 61, 9259-9263.
- Lucarini, M., V.Mugnaini, G.F.Pedulli, 2002, Bond dissociation enthalpies of polyphenol: The importance of cooperative effects, J.Org.Chem., 67, 928-931.
- McClements, D.J., & Decker, E.A. 2000, Lipid Oxidation in Oil-In-Water Emulsion; Impact of Molecular Environment on Chemical Reaction in Heterogeneous Food system, Journal of Food Science, 65 (8), 1270-1282.

- Nawar, W.W., 1985, Lipids, di dalam: Food Chemistry; O.R.Fennema (editor), Second Edition, Marcel Decker, Inc., New york.
- Nenadis, N., I.Zafiropoulou, M.Tsimidou, 2003, Commonly used food antioxidants: a comparative study in dispersed systems, Food Chemistry, 82, 403-407.
- Osborn, H.T., C.C.Akoh., 2004, Effect of Emulsifier Type, Droplet Size, and Oil Concentration on Lipid Oxidation in Structured Lipid-Based Oil-In-Water Emulsions, Food Chemistry, 84, 451-456
- Pashley, R.M., M.Rzechowicz, L.R.Pashley, M.J.Francis, 2005, De-gassed water is a better cleaning agent, J.Phys.Chem.B., 109, 1231-1238.
- Psomiadou, E., M.Tsimidou, 1998, Simultaneous HPLC determination of tocopherols, carotenoids, and chlorophylls for monitoring their effect on virgin olive oil oxidation, J. Agric. Food Chem, 46, 5132-5138.
- Raymundo, A., J.M.franco, J.Empis, I.Sousa, 2002, Optimization of the composition of low-fat oil-in-water emulsions stabilized by white lupin protein, JAOCS, Vol.79, No.8.
- Ross, L.,C.Barclay, J.A.Artz, J.J.Mowat, 1995, Partitioning and antioxidant action of the water soluble antioxidant, trolox, between the aqueous and lipid phase of phosphatidylcholine membranes, 14 tracer and product studies, Biochimica et Biophysica Acta, 1237, 77-85.
- Schwarz, K., S-W. Huang, J.B.German, B.Tiersch, J.Hartmann dan E.N.Frankel, 2000, Activities of antioxidants are affected by colloidal properties of oil-in-water and water-in-oil emulsions and bulk oils, J. Agric. Food Chem., 48, 4874-4882.
- Shiota, M., K.Tatsumi, 2002, Effect of Sucrose Ester of Fatty Acid on the Antioxidant Activity of Milk Products on Fish Oil Oxidation, J. Food Sci., 67, No.2.
- Sok Line, V.L., G.E.Remondetto, M.Subrade, 2005, Cold gelation of β -lactoglobulin oil-in-water emulsion, Food Hydrocolloids, 19, 269-278.