

# STABILITAS MIKROEMULSI FUCOXANTHIN DAN EFEKTIFITASNYA DALAM MENGHAMBAT FOTO OKSIDASI VITAMIN C PADA MODEL MINUMAN

Fucoxanthin Microemulsion Stability and Its Effectiveness in Inhibiting Photooxidation of Vitamin C in Beverage Model

Lutfi Suhendra<sup>1</sup>, Sri Raharjo<sup>2</sup>, Pudji Hastuti<sup>2</sup>, Chusnul Hidayat<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Teknologi Industri, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Kampus UNUD Bukit Jimbaran, Bali 80361

<sup>2</sup>Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jl. Flora No. 1

Bulaksumur, Yogyakarta 55281

Email: lutfisuhendra@hotmail.com

## ABSTRAK

Mikroemulsi fucoxanthin dibuat dengan melarutkan fucoxanthin dalam VCO dan ditambah surfaktan (Tween 20:Tween 80:Span 80 = 92:5,5:2,5 (% v/v), dengan rasio minyak-surfaktan 15:85 v/v, kemudian ditambahkan air hingga konsentrasi fucoxanthin mencapai 600 ppm. Mikroemulsi fucoxanthin dianalisis stabilitasnya meliputi pengujian stabilitas terhadap pH yang dilakukan pengenceran 50 kali dan 100 kali dengan media air dan buffer sitrat (pH: 3,5; 4,5 dan aquades pH 6,5). Selanjutnya sampel-sampel tersebut diuji stabilitasnya terhadap sentrifugasi dan penyimpanan pada suhu kamar. Stabilitas kenampakan mikroemulsi fucoxanthin diukur absorbansinya dengan spektrometer UV/VIS pada panjang gelombang 458 nm. Model minuman merupakan larutan yang tersusun dari vitamin C (450 mg/L), asam sitrat (1%) dan sukrosa (6%). Mikroemulsi fucoxanthin yang ditambahkan ke dalam model minuman yang telah diencerkan 50 kali dan 100 kali dengan aquades pH 6,5. Selanjutnya ke dalam sampel ditambahkan 5 ppm eritrosin sebagai sensitiser atau tanpa penambahan eritrosin sebagai kontrol. Sampel tersebut kemudian diletakkan di dalam generator oksigen singlet yang telah dilengkapi lampu fluoresens dengan intensitas cahaya 2000 lux. Konsentrasi vitamin C diukur dengan metode *riboflavin-sensitized photodynamic UV spectrophotometry* dengan interval 2 jam. Mikroemulsi fucoxanthin yang diperoleh stabil pada pH 3,5 sampai 6,5 dan meskipun telah mengalami perlakuan pemanasan, sentrifugasi dan pengenceran. Mikroemulsi fucoxanthin di atas 6 ppm tidak efektif lagi dalam menghambat laju kerusakan vitamin C pada foto oksidasi dalam model minuman.

**Kata kunci:** Mikroemulsi, fucoxanthin, fotooksidasi, asam askorbat

## ABSTRACT

Fucoxanthin microemulsion was prepared by dissolving fucoxanthin in Virgin Coconut Oil (VCO) and mixture of surfactants (Tween 20:Tween 80:Span 80 = 92:5.5:2.5 (% v/v) with oil-surfactant ratio 15:85 v/v, then added with water until the concentration reaching 600 ppm fucoxanthin. The fucoxanthin microemulsions were analyzed the stability towards pH, the samples were diluted 50 times and 100 times with water media and citrate buffer (pH:3.5; 4.5 and distilled water pH 6.5). Subsequently, the samples were tested for centrifugation and storage stability at room temperature. The appearance of fucoxanthin microemulsion stability was measured with spectrometer UV/VIS at a wavelength of 458 nm. The beverage models were made of vitamin C (450 mg/L), citric acid (1%) and sucrose (6%). Fucoxanthin microemulsions were added to the beverage model that had been diluted 50 time and 100 time with distilled water pH 6.5. Subsequently, the samples were added 5 ppm erythrosine as a sensitizer and without erythrosine as control. The beverage models were exposed to fluorescent light with an intensity of 2000 lux. Vitamin C concentration was measured by the method of riboflavin-sensitized photodynamic UV spectrophotometry every 2 hours. Fucoxanthin microemulsions were stable at pH 3.5 to 6.5 and even the heating treatment, centrifugation and dilution. Fucoxanthin microemulsion above 6 ppm was not effective in inhibiting degradation rate of vitamin C on photooxidation in beverage models.

**Keywords:** Microemulsions, fucoxanthin, photooxidation, ascorbic acid

## PENDAHULUAN

Fucoxanthin merupakan karotenoid perairan yang mempunyai kemampuan biologis sebagai anti kanker (Kotake-Nara dkk., 2001; Hosokawa dkk., 2006; Hosokawa dkk., 2004), anti *inflammantory* (Shiratori dkk., 2005), anti obesitas (Maeda dkk., 2005; Maeda dkk., 2006), dan antioksidan kuat (Nomura dkk., 1997; Sachindra dkk., 2007). Fucoxanthin terdapat pada alga cokelat keemasan (*Chrysophyceae*, *Bacillariophyceae*, *Prymnesiophyceae* dan *Phaeophyceae*), yang berfungsi sebagai pigmen penangkap cahaya yang digunakan untuk fotosintesis dan mempunyai kelarutan rendah dalam air (Lee, 2008). Fucoxanthin mempunyai struktur meliputi allenik, karbonil terkonjugasi, epoksi, dan gugus asetil pada molekulnya (Heo dan Jeon, 2009).

Fucoxanthin mempunyai potensi sebagai makanan fungsional. Hal ini sangat menarik untuk diaplikasikan dalam industri makanan. Namun fucoxanthin dan derivat karotenoid lainnya mudah rusak oleh oksigen, cahaya dan panas, mempunyai sifat kelarutan yang rendah dalam air dan sedikit larut dalam minyak pada suhu kamar sehingga menyebabkan sulit diterapkan pada produk makanan, farmasi dan kesehatan (Yuan dkk., 2008a; McClements dkk., 2007). Fucoxanthin sulit diabsorpsi dalam tubuh, mudah disekresikan lewat feses dan urin, dan sangat sedikit ditemukan dalam plasma darah (Wang dkk., 2008; Lin dkk., 2009; Cui dkk., 2009). Kelarutan dan bioavailabilitas karotenoid seperti fucoxanthin dapat diperbaiki dengan menggunakan teknik mikroemulsi *oil in water (o/w)* (Wang dkk., 2008; Yuan dkk., 2008b).

Mikroemulsi merupakan dispersi isotropik yang terdiri dari fase minyak dan fase air yang distabilkan oleh molekul surfaktan dan/atau ko-surfaktan pada lapisan antar muka (Lin dkk., 2009). Mikroemulsi sebagai sistem pembawa berpotensi diaplikasikan pada industri makanan, farmasi, dan kosmetik karena kenampakannya yang transparan, mudah preparasinya, lebih stabil dari pada emulsi biasa, dan berpotensi meningkatkan bioavailabilitas senyawa bioaktif Mc Clements dkk., 2007). Mikroemulsi menggunakan campuran ko-surfaktan seperti alkohol, tidak sesuai untuk diaplikasikan dalam makanan, karena alkohol rantai pendek atau medium dapat mengakibatkan toksis dan iritasi (Flanagan dan Singh, 2006). Ko-surfaktan juga menyebabkan mikroemulsi menjadi rapuh sehingga partisi yang dilarutkan mampu ke luar melalui ko-surfaktan pada daerah antar muka ke dalam fase kontinue (Warisnoicharoen dkk., 2000). Surfaktan nonionik seperti gula ester, *polyoxyethylene sorbitan ester* (tween) dan *polyoxyethylene eter* telah digunakan secara luas di bidang farmasi yang mempunyai toksisitas relatif rendah tetapi berpotensi menimbulkan iritasi (Flanagan dan Singh, 2006). Campuran surfaktan (tween, span, dan garam asam lemak) dan phospholipids (lesitin) telah banyak digunakan di industri makanan dalam sistem pangan (McClements, 2008).

Pembentukan mikroemulsi dengan stabilitas tinggi dalam sistem pangan sangat kompleks dipengaruhi oleh fase minyak dan jenis surfaktan, suhu, pH dan pengenceran (Cho dkk., 2008; Cui dkk., 2009). Mikroemulsi *o/w* dipengaruhi oleh campuran kombinasi jenis surfaktan hidrofilik dan lipofilik, dan minyak. Mikroemulsi *o/w* mempunyai stabilitas dan kelarutan tinggi apabila diperoleh dari campuran dengan perbandingan tepat, dan dapat digunakan sebagai pembawa senyawa bioaktif fucoxanthin. Keseimbangan hidrofilik lipofilik (HLB) merupakan konsep yang mendasari metode semi empirik untuk memilih pengemulsi yang tepat atau kombinasi pengemulsi pada stabilitas emulsi (Hiemenz dan Rejogopalan, 1997). Stabilitas dan kelarutan mikroemulsi yang terbentuk sangat penting untuk meningkatkan kelarutan dan bioavailabilitas fucoxanthin yang mudah preparasinya dalam aplikasi sistem pangan.

Vitamin C (asam askorbat) mudah terdegradasi akibat pH, konsentrasi oksigen, metal, dan cahaya (Jung dkk., 1995; Sansal dan Somer, 1997). Laju kerusakan vitamin C dipengaruhi oleh kelarutan oksigen dalam pelarut (Dhuique-Mayer dkk., 2007; Van Bree dkk., 2012). Vitamin C teroksidasi oleh oksigen melalui reaksi reversibel menjadi asam L-dehidroaskorbat (Campos dkk., 2009; Marti dkk., 2009; Serpen dkk., 2007). Asam L-dehidroaskorbat mempunyai aktivitas lima kali lebih rendah dibanding asam askorbat (Nkhili dan Brat, 2011). Vitamin C kehilangan aktivitas biologinya jika asam dehidroaskorbat terhidrolisis oleh air menjadi asam 2,3-ketogulanik (Righetto dan Netto, 2006; Rojas dan Gerschenson, 2001). Kerusakan vitamin C dapat dihambat dengan menambahkan mikroemulsi dalam larutan. Mikroemulsi *o/w* menghambat kerusakan vitamin C lebih baik dibandingkan mikroemulsi *w/o* (Szymula dan Narkiewicz-Michalek, 2009).

Uraian tersebut menggambarkan bahwa fucoxanthin merupakan senyawa bioaktif penting yang mudah rusak oleh oksidasi, cahaya dan panas, absorpsi tidak efektif dan aplikasi dalam sistem pangan menjadi sulit diterapkan. Pembentukan mikroemulsi *o/w* menggunakan beberapa jenis surfaktan nonionik dapat meningkatkan kelarutan dan bioavailabilitas fucoxanthin yang mudah dalam preparasinya dan mempunyai stabilitas lebih baik. Tujuan penelitian ini adalah memperoleh mikroemulsi fucoxanthin yang stabil dari campuran *VCO (Virgin Coconut Oil)* dan surfaktan non ionik untuk menstabilkan dan menghambat laju kerusakan vitamin C akibat fotooksidasi dalam model minuman.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Fucoxanthin diperoleh dari Oryza LTD Japan, Pewarna sintesis FD&C red No. 3 (eritrosin) komersial dari Yogyakarta,

Span 80, Tween 20, Vitamin C, asam sitrat dan Naisitrat dari Merck (Darmstadt, Germany), VCO diperoleh dari Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

**Preparasi Mikroemulsi Fucoxanthin**

Mikroemulsi o/w dari minyak-surfaktan (15:85 v/v), perbandingan surfaktan Tween 80:Span 80:Tween 20 = 92:5,5:2,5 (% v/v) ditambahkan fucoxanthin 600 ppm dan ditambah air tetes demi tetes dan diaduk menggunakan pengaduk magnet pada suhu 70±5°C sampai kadar air 65%, sehingga larutan terlihat transparan. Mikroemulsi fucoxanthin adalah fucoxanthin dilarutkan dalam VCO dan ditambah surfaktan, kemudian ditambahkan air tetes demi tetes hingga konsentrasi fucoxanthin mencapai 600 ppm.

**Pengujian Stabilitas Mikroemulsi Fucoxanthin**

Pengujian stabilitas terhadap pH dilakukan dengan mengencerkan mikroemulsi fucoxanthin dengan media air dan buffer sitrat (pH: 3,5; 4,5 dan aquades pH 6,5) dengan pengenceran 50 kali dan 100 kali sehingga diperoleh masing-masing mikroemulsi fucoxanthin 12 ppm dan 6 ppm. Selanjutnya sampel-sampel tersebut dilakukan pengujian stabilitasnya terhadap sentrifugasi, pemanasan, pengaruh cahaya dan penyimpanan dilakukan menurut metode yang dilaporkan oleh Cho dkk. (2008). Pengujian stabilitas terhadap pemanasan dilakukan dengan memanaskan sampel mikroemulsi fucoxanthin (15 ml) pada suhu 105°C selama 5 jam dalam oven. Stabilitas terhadap sentrifugasi dilakukan dengan mengambil sampel mikroemulsi fucoxanthin (10 mL) dan disentrifugasi pada 4500 rpm selama 30 menit. Stabilitas mikroemulsi fucoxanthin akibat adanya cahaya dilakukan dengan mengambil sampel sebanyak 30 mL dimasukkan ke dalam botol dengan/tanpa dibungkus aluminium foil berukuran 50 mL yang dilengkapi dengan penutup karet yang terbungkus aluminium foil, selanjutnya sampel tersebut disimpan pada suhu ruang selama 24 jam. Stabilitas mikroemulsi terhadap penyimpanan dilakukan dengan mengambil sampel sebanyak 30 mL dimasukkan ke dalam botol berukuran 50 mL yang dilengkapi dengan penutup karet yang terbungkus aluminium foil, selanjutnya sampel dipanaskan pada suhu 105°C selama 5 jam dalam oven, dan pengamatan dilakukan tiap 2 minggu selama 4 minggu disimpan pada suhu ruang. Stabilitas mikroemulsi fucoxanthin diamati berdasarkan kenampakan dispersinya, ada atau tidaknya pemisahan dan pengendapan. Mikroemulsi fucoxanthin diukur absorbansinya menggunakan spektrometer UV/VIS pada panjang gelombang 458 nm.

**Pengaruh Mikroemulsi Fucoxanthin terhadap Foto oksidasi Vitamin C pada Model Minuman**

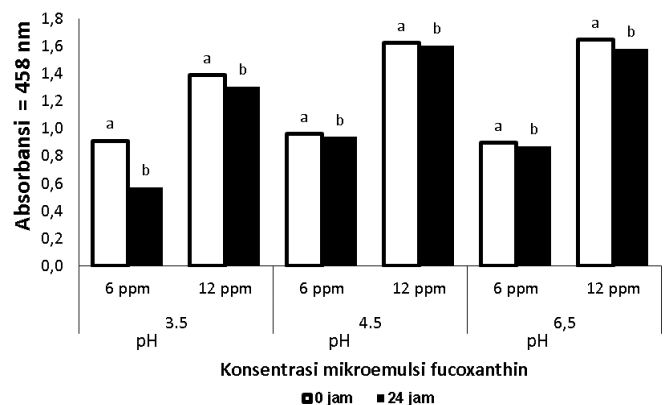
Model minuman merupakan larutan air (aquades) yang tersusun dari vitamin C (450 mg/L), asam sitrat (1%) dan sukrosa (6%) dengan pH 3,5. Selanjutnya mikroemulsi fucoxanthin dan eritrosin ditambahkan sesuai dengan perlakuan ke dalam larutan. Kerusakan vitamin C diukur dengan cara mengukur laju kerusakan vitamin C dalam model minuman. Kontrol ada dua yaitu larutan model minuman tanpa diberi eritrosin dan larutan model minuman ditambah eritrosin 5 ppm.

Mikroemulsi o/w yang ditambahkan ke dalam model minuman adalah larutan mikroemulsi diencerkan 50 kali dan 100 kali dengan aquades pH 6,5. Selanjutnya ditambahkan dengan/tanpa eritrosin sehingga masing-masing larutan mengandung eritrosin 5 ppm sebagai sensitiser. Sebanyak 15 mL sampel diambil dan dimasukkan ke dalam botol dengan/ tanpa pembungkus aluminium foil berukuran 50 mL yang dilengkapi dengan penutup karet yang terbungkus aluminium foil. Sampel tersebut kemudian diletakkan di dalam generator oksigen singlet yang telah dilengkapi lampu fluoresens dengan intensitas cahaya 2.000 lux (Lee dan Min, 1988). Konsentrasi vitamin C diukur dengan metode *riboflavin-sensitized photodynamic UV spectrophotometry* setiap interval 2 jam selama 8 jam (Jung dkk., 1995).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Pengaruh Konsentrasi dan pH terhadap Stabilitas Mikroemulsi Fucoxanthin**

Mikroemulsi fucoxanthin 600 ppm diencerkan 50x dan 100x sehingga masing-masing pengenceran diperoleh konsentrasi fucoxanthin 12 ppm dan 6 ppm. Mikroemulsi



Gambar 1. Stabilitas mikroemulsi fucoxanthin selama 24 jam disimpan pada suhu ruang.

Keterangan: Notasi sama pada 0 jam dan 24 jam berarti tidak beda nyata (P > 0,05)

fucoxanthin diencerkan dengan aquades (pH 6,5) dan buffer sitrat (pH 3,5 dan 4,5). Mikroemulsi fucoxanthin yang diencerkan selanjutnya disimpan pada suhu ruang selama 24 jam. Pengaruh konsentrasi dan pH terhadap stabilitas mikroemulsi fucoxanthin disajikan pada Gambar 1.

Pengenceran dan pH berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap stabilitas semua mikroemulsi fucoxanthin selama disimpan 24 jam pada suhu kamar. Pengenceran dan pH menyebabkan mikroemulsi fucoxanthin memerlukan waktu untuk mencapai kesetimbangan agar dapat terdispersi sempurna dan mencapai termodinamika yang stabil. Mikroemulsi fucoxanthin setelah disimpan selama 24 jam terdispersi sempurna dengan kenampakan larutan lebih transparan. Mikroemulsi fucoxanthin yang diencerkan 100x (6 ppm) pada pH 3,5 selama disimpan 24 jam menunjukkan penurunan absorbansi paling besar dibandingkan mikroemulsi fucoxanthin yang lain, penurunan nilai absorbansi adalah sebesar 37%.

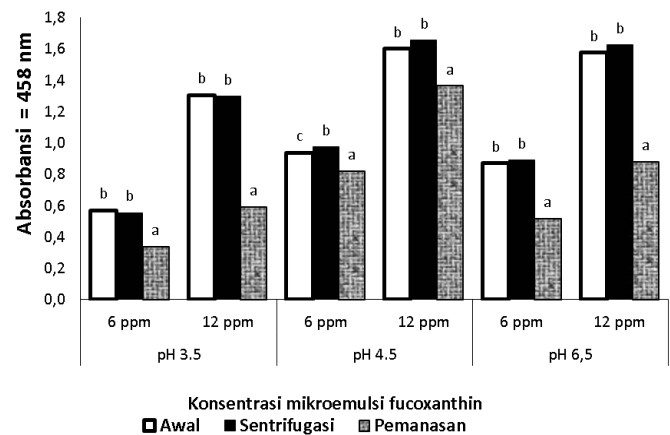
Miselsurfaktan terbentuk dalam larutan *aqueous* disebabkan konsentrasi surfaktan melewati tingkat kritis, hal ini disebut sebagai konsentrasi misel kritis (cmc). Konsentrasi mikroemulsi fucoxanthin dalam larutan cenderung mendekati titik cmc jika dilakukan pengenceran terlalu tinggi, karena konsentrasi surfaktan sangat rendah. Konsentrasi mikroemulsi fucoxanthin mendekati titik cmc dapat menyebabkan mikroemulsi fucoxanthin tidak stabil, di bawah titik cmc surfaktan cenderung dalam bentuk monomer yang mempunyai tegangan muka tinggi dan tidak terbentuk misel yang mempunyai tegangan muka rendah. Misel yang terbentuk dari surfaktan non ionik, polaritasnya dipengaruhi oleh kesetimbangan asam basa antara misel dan air (Whiddon dkk., 2003). Kombinasi pH yang menyebabkan perubahan polaritas dan konsentrasi surfaktan rendah ini kemungkinan menyebabkan mikroemulsi fucoxanthin tidak stabil, sehingga sebagian fucoxanthin berada dalam misel dan antar muka bermigrasi ke fase air. Fucoxanthin tidak larut di dalam fase air, sehingga sebagian fucoxanthin akan memisah dengan fase air selama disimpan 24 jam. Hal ini diduga menyebabkan konsentrasi fucoxanthin setelah disimpan 24 jam mengalami penurunan yang tajam.

Penurunan absorbansi mikroemulsi fucoxanthin dengan pengenceran 50x (12 ppm) pada pH 3,5 setelah disimpan 24 jam lebih kecil dibandingkan dengan mikroemulsi fucoxanthin pengenceran 100x (6 ppm). Pengenceran mikroemulsi fucoxanthin lebih kecil, konsentrasi mikroemulsi fucoxanthin lebih besar, sehingga konsentrasi surfaktan di dalam larutan jauh di atas titik cmc. Pengenceran rendah mikroemulsi fucoxanthin pada larutan pH rendah menyebabkan perubahan polaritas antara misel dan air tidak banyak berpengaruh terhadap mikroemulsi fucoxanthin, hal ini diduga mikroemulsi fucoxanthin lebih stabil dengan konsentrasi surfaktan tinggi.

### Pengaruh Sentrifugasi dan Pemanasan terhadap Stabilitas Mikroemulsi Fucoxanthin

Stabilitas mikroemulsi fucoxanthin terhadap sentrifugasi (4500 rpm) dan pemanasan ( $105^{\circ}\text{C}$ , 5 jam) setelah disimpan 24 jam. Mikroemulsi fucoxanthin diencerkan masing-masing 50x dan 100x dengan aquades (pH 6,5) dan buffer sitrat (pH 3,5 dan 4,5) yang disajikan pada Gambar 2.

Stabilitas mikroemulsi fucoxanthin terhadap sentrifugasi setelah disimpan selama 24 jam menunjukkan kestabilan tinggi yang ditunjukkan nilai absorbansi tidak berbeda ( $P > 0,05$ ), kecuali pada mikroemulsi fucoxanthin 6 ppm pada pH 4,5 berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan mikroemulsi fucoxanthin sebelum disentrifugasi (awal) (Gambar 2). Hal ini mengindikasikan sentrifugasi tidak menyebabkan mikroemulsi fucoxanthin yang terdispersi terpisah dengan fase kontinyunya.



Gambar 2. Stabilitas mikroemulsi fucoxanthin terhadap sentrifugasi dan pemanasan ( $105^{\circ}\text{C}$ , 5 jam) setelah selama 24 jam disimpan pada suhu ruang.

Keterangan: Notasi sama pada awal, sentrifugasi dan pemanasan berarti tidak beda nyata ( $P > 0,05$ )

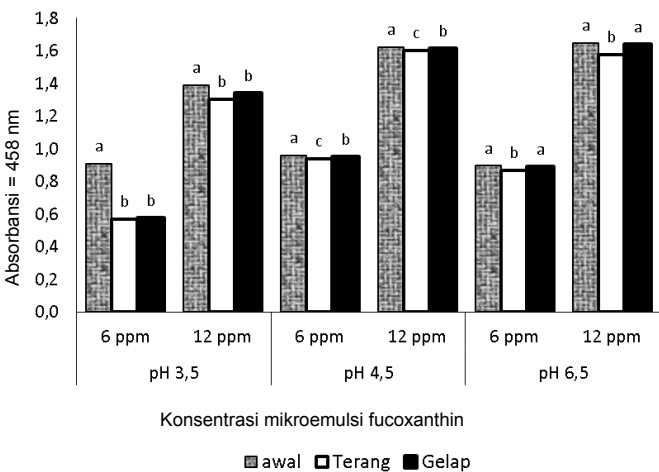
Mikroemulsi fucoxanthin yang dipanaskan selama 5 jam pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  mengalami penurunan nilai absorbansi yang nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan mikroemulsi fucoxanthin sebelum dipanaskan (Gambar 2). Kerusakan fucoxanthin diduga fucoxanthin tidak tahan pemanasan pada suhu tinggi, sehingga pemanasan suhu tinggi dan waktu yang lama menyebabkan fucoxanthin terdegradasi.

Kerusakan fucoxanthin pH 4,5 pada pengenceran 50x (-12,69 %) dan pengenceran 100x (-14,89 %), tanda minus menunjukkan kerusakan fucoxanthin sebesar 12,69 % dan 14,89% akibat pemanasan. Kerusakan fucoxanthin pH 4,5 paling kecil dibandingkan pada pH 3,5 dan aquades pH 6,5, hal ini kemungkinan pada pH 4,5 struktur mikroemulsi mempunyai stabilitas tinggi, sehingga mampu melindungi fucoxanthin dari kerusakan yang berlebihan akibat pemanasan

suhu tinggi dan waktu lama. Losso dkk. (2005) melaporkan bahwa lutein yang dilarutkan dalam mikroemulsi o/w stabilitasnya pada pH 4,55 sepuluh kali dibandingkan pada pH 3,86.

**Pengaruh Cahaya terhadap Stabilitas Mikroemulsi Fucoxanthin**

Mikroemulsi fucoxanthin disimpan selama 24 jam, selanjutnya disimpan selama 24 jam pada kondisi terang dan gelap pada suhu ruang. Hasil penyimpanan pada kondisi terang dan gelap disajikan pada Gambar 3.



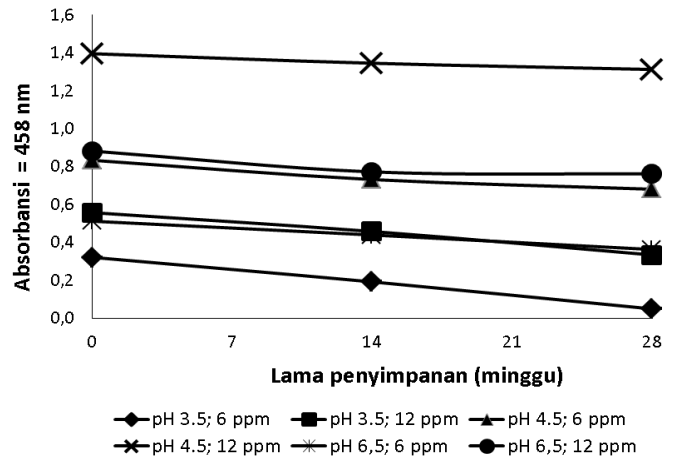
Gambar 3. Stabilitas mikroemulsi fucoxanthin pada kondisi terang dan gelap setelah disimpan 24 jam.

Keterangan: Notasi sama pada awal, terang dan gelap berarti tidak beda nyata (P > 0,05)

Mikroemulsi fucoxanthin dalam pengujian ini tidak dilakukan pemanasan selama 24 jam disimpan disuhu kamar pada kondisi terang dan gelap menunjukkan absorbansi tidak banyak perubahan. Hal ini menunjukkan bahwa mikroemulsi fucoxanthin stabil pada kondisi terang dan gelap selama penyimpanan 24 jam setelah disimpan 24 jam. Fucoxanthin dalam bentuk mikroemulsi kemungkinan dapat meminimalkan pengaruh cahaya terhadap stabilitasnya, sehingga cahaya tidak berpengaruh terhadap stabilitas fucoxanthin.

**Pengaruh Lama Penyimpanan terhadap Stabilitas Mikroemulsi Fucoxanthin**

Stabilitas mikroemulsi fucoxanthin selama penyimpanan 4 minggu setelah dipanaskan selama 5 jam pada suhu 105°C. Mikroemulsi fucoxanthin diencerkan 50x dan 100x dengan aquades (pH 6,5) dan buffer sitrat (pH 3,5 dan 4,5). Pengaruh lama penyimpanan terhadap stabilitas mikroemulsi fucoxanthin selama 4 minggu ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Stabilitas mikroemulsi fucoxanthin selama penyimpanan 4 minggu setelah pemanasan (5 jam, 105°C).

Laju kerusakan mikroemulsi fucoxanthin selama penyimpanan 4 minggu setelah pemanasan (5 jam, 105°C). Mikroemulsi fucoxanthin diencerkan masing-masing 50x dan 100x dengan aquades (pH 6,5) dan buffer sitrat (pH 3,5 dan 4,5) disajikan pada Tabel 1.

Kerusakan fucoxanthin selama penyimpanan 4 minggu menunjukkan berbeda nyata (P<0,05) terhadap pengaruh pengenceran dan pH. Mikroemulsi fucoxanthin pada pH 4,5 dan 6,5 lebih stabil dibandingkan pada pH 3,5 selama penyimpanan 4 minggu. Kerusakan fucoxanthin selama penyimpanan kemungkinan disebabkan oleh proses pemanasan pada suhu tinggi dan adanya prooksidan. Proses pemanasan tinggi dan prooksidan kemungkinan menyebabkan terbentuk radikal bebas. Fucoxanthin mempunyai kemampuan sebagai penangkap radikal bebas yang terdapat gugus -OH, allenik dan karbonil pada rantai sikliknya yang dapat menghambat terjadinya proses propagasi pada proses autooksidasi. Hal ini menyebabkan fucoxanthin mengalami degradasi yang disebabkan adanya perubahan struktur kimianya sebagai fucoxanthin dalam bentuk radikal.

Tabel 1. Laju kerusakan mikroemulsi fucoxanthin selama penyimpanan 4 minggu setelah pemanasan (5 jam, 105°C).

pH	Konsentrasi	Laju kerusakan fucoxanthin (Absorbansi/jam x 10 <sup>-5</sup> )
pH 3,5	6 ppm	9,7 ± 0,18 <sup>a</sup>
	12 ppm	7,4 ± 1,80 <sup>ab</sup>
pH 4,5	6 ppm	5,5 ± 0,23 <sup>bc</sup>
	12 ppm	2,5 ± 1,29 <sup>c</sup>
pH 6,5	6 ppm	5,1 ± 0,62 <sup>bc</sup>
	12 ppm	3,8 ± 1,80 <sup>c</sup>

Keterangan: Notasi sama pada kolom sama berarti tidak beda nyata (P > 0,05)

Mikroemulsi fucoxanthin pada pH 3,5 selama penyimpanan 4 minggu menunjukkan laju kerusakan paling besar. Pada emulsi, sekeliling membran droplet emulsi terdiri dari zat aktif permukaan seperti pengemulsi dan/atau protein yang memberikan penghalang proteksi pada penetrasidan difusi metal atau radikal yang menginisiasi oksidasi lipid (Miyashita, 2002). Kerusakan fucoxanthin diduga karena pada larutan mengandung prooksidan berupa Fe yang mempunyai kelarutan tinggi dan lebih aktif sebagai katalis pada pH rendah. Besi (Fe) pada pH 3,5 kemungkinan menyebabkan Fe bermigrasi dari fase air ke bagian antar muka dan misel lebih cepat. Besi yang berada pada bagian antar muka dan misel diduga lebih efektif mengoksidasi minyak yang terdapat pada misel, sehingga menyebabkan terbentuk radikal bebas lebih besar. Hal ini kemungkinan menyebabkan laju kerusakan fucoxanthin lebih tinggi.

Penelitian ini tidak menggunakan air demineralisasi, tetapi menggunakan aquades yang kemungkinan mengandung Fe. Penelitian ini untuk diaplikasikan pada produk minuman yang menggunakan air tanpa demineralisasi.

**Efek Mikroemulsi Fucoxanthin terhadap Fotooksidasi Vitamin C pada Model Minuman**

Pengaruh mikroemulsi fucoxanthin 6 ppm dan 12 ppm dengan/tanpa eritrosin ditambahkan ke dalam model minuman dan dikenai cahaya 2000 lux selama 8 jam pada suhu kamar ditunjukkan pada Gambar 5. Mikroemulsi fucoxanthin 6 ppm dan 12 ppm dengan/tanpa eritrosin ditambahkan ke dalam

model minuman mampu dan efektif menghambat kerusakan vitamin C, baik pada kondisi terang dan kondisi gelap.

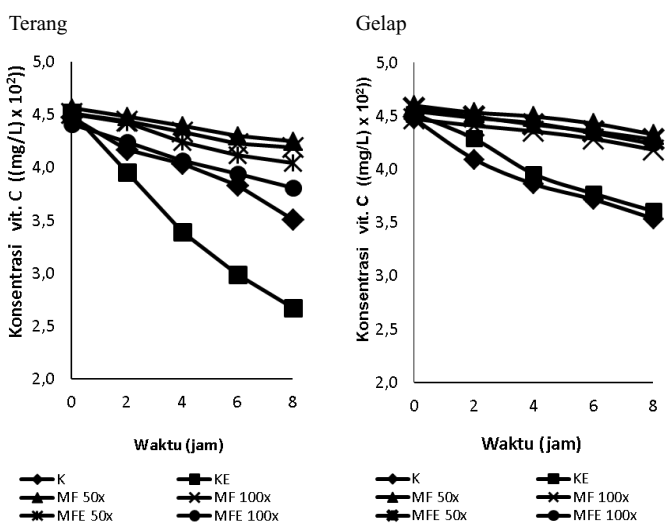
Laju kerusakan vitamin C pada mikroemulsi fucoxanthin 6 ppm dan 12 ppm dengan/tanpa eritrosin ditambahkan ke dalam model minuman berbeda nyata dengan kontrol yang ditambahkan eritrosin maupun yang tidak diberi eritrosin, baik pada kondisi terang maupun gelap (Tabel 2). Hal ini mengindikasikan bahwa mikroemulsi fucoxanthin 6 ppm dan 12 ppm dengan/tanpa eritrosin ditambahkan ke dalam model minuman mampu dan efektif menghambat kerusakan vitamin C dan menstabilkan vitamin C.

Tabel 2. Laju kerusakan vitamin C pada model minuman (vitamin C 450 mg/L, asam sitrat 1%, dan sukrosa 6%) dengan/tanpa dan dikenai cahaya fluorens 2000 lux selama 8 jam pada suhu ruang.

Perlakuan	Laju kerusakan vitamin C (mg. L <sup>-1</sup> . Jam <sup>-1</sup> )	
	Terang	Gelap
Kontrol + eritrosin 5 ppm	23,33±0,21 <sup>a</sup>	11,26±0,04 <sup>a</sup>
Kontrol	11,40±0,15 <sup>b</sup>	11,69±0,19 <sup>a</sup>
MF 6 ppm + eritrosin 5 ppm	7,50±0,41 <sup>c</sup>	3,83±,09 <sup>b</sup>
MF 12 ppm + eritrosin 5 ppm	6,13±0,45 <sup>c</sup>	3,70±0,02 <sup>b</sup>
MF 6 ppm	4,28±0,50 <sup>d</sup>	3,51±0,17 <sup>bc</sup>
MF 12 ppm	4,03±0,71 <sup>d</sup>	3,22±0,06 <sup>c</sup>

Keterangan: Notasi sama pada kolom sama berarti tidak beda nyata (P > 0,05).

MF: mikroemulsi fucoxanthin.



Gambar 5. Kerusakan vitamin C pada model minuman (vitamin C 450 mg/L, asam sitrat 1%, dan sukrosa 6%) dengan/tanpa eritrosin dan dikenai cahaya fluorens 2000 lux selama 8 jam pada suhu ruang. K: kontrol; KE: kontrol + eritrosin 5 ppm; MF 50x: mikroemulsi fucoxanthin 12 ppm; MF 100x: mikroemulsi fucoxanthin 6 ppm; MFE 50x: mikroemulsi fucoxanthin 12 ppm + eritrosin 5 ppm; dan MFE 100x: mikroemulsi fucoxanthin 6 ppm + eritrosin 5 ppm.

Mikroemulsi fucoxanthin 6 ppm dan 12 ppm yang ditambahkan eritrosin ke dalam model minuman mempunyai laju kerusakan vitamin C tidak berbeda nyata (P>0,05). Hal ini menunjukkan bahwa fucoxanthin dengan konsentrasi 6 ppm mempunyai kemampuan dan efektivitas yang sama dengan fucoxanthin 12 ppm dalam menghambat laju kerusakan vitamin C pada model minuman.

Fucoxanthin mempunyai laju *quenching* lebih besar dibandingkan vitamin C yaitu masing-masing 7,28 x 10<sup>9</sup> M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> dan 6,63 x 10<sup>8</sup> M<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> (Jung dkk., 1995). Laju *quenching* fucoxanthin lebih tinggi dibandingkan vitamin C, maka fucoxanthin mempunyai kemampuan melindungi vitamin C dari kerusakan yang diakibatkan oleh oksigen singlet. Mikroemulsi fucoxanthin efektif menghambat laju kerusakan vitamin C pada konsentrasi rendah, kemungkinan sebagian fucoxanthin berada pada antar muka misel. Misel yang terbentuk dari surfaktan non ionik mempunyai keuntungan melarutkan senyawa antioksidan dengan kepolaran yang fleksibel, hal ini disebabkan konstanta dielektrik pada bagian hidrofilik surfaktan pada kisaran 30-35. Fleksibilitas kepolaran pada bagian hidrofilik ini diduga mampu melarutkan

vitamin C dan fucoxanthin pada daerah antar muka misel. Frankel dkk. (1994) melaporkan aktivitas antioksidan dalam emulsi mempunyai korelasi positif dengan proporsi senyawa antioksidan di daerah antar muka misel dan senyawa antioksidan di dalam misel tidak aktif sebagai antioksidatif. Senyawa antioksidan non polar yang dilarutkan ke dalam mikroemulsi non ionik akan terlarut pada bagian fase minyak dan antar muka. Senyawa antioksidan non polar dengan mudah terdifusi dari fase minyak ke bagian antar muka atau sebaliknya (Mukerjee dan Ko, 1992; Pena dan miller, 2006).

## KESIMPULAN

Mikroemulsi fucoxanthin yang diperoleh stabil pada pH 4,5 sampai 6,5 dan bahkan setelah perlakuan pemanasan, sentrifugasi dan pengenceran. Konsentrasi mikroemulsi fucoxanthin di atas 6 ppm tidak efektif lagi dalam menghambat laju kerusakan vitamin C pada fotooksidasi dalam model minuman.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, melalui Penelitian Hibah Kompetensi tahun 2012.

## DAFTAR PUSTAKA

- Campos, F.M., Ribeiro, S., Lucia, H. dan Stringheta, P.C. (2009). Optimization of methodology to analyze ascorbic and dehydroascorbic acid in vegetables. *Quimica Nova* **32**: 87-91.
- Cho, Y.H., Kim, S., Bae, E.K., Mok, C.K. dan Park, J. (2008). Formulation of a cosurfactant-free o/w microemulsion using nonionic surfactant mixtures. *Journal of Food Science* **73**: 115-121.
- Cui, J., Yu, B., Zhao, Y., Zhu, W., Li, H., Lou, H. dan Zhai, G. (2009). Enhancement of oral absorption of curcumin by self-microemulsifying drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutical* **371**: 148-155.
- Dhuique-Mayer, C., Tbatou, M., Carail, M., Caris-Veyrat, C., Dornier, M. dan Amiot, M.J. (2007). Thermal degradation of antioxidant micronutrients in citrus juice. kinetics and newly formed compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**: 4209-4216.
- Flanagan, J. dan Singh, H. (2006). Microemulsions: a potential delivery system for bioactive in food. *Journal of Critical Reviews on Food Science and Nutrition* **4**: 221-237.
- Frankel, E.N., Huang, S.-W., Aeschbach, R. dan Prior, E. (1996). Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **44**: 131.
- Hiemenz, P.C. dan Rejogopalan, R. (1997). *Principles of Colloid and Surface Science*. 3<sup>rd</sup> edn. Dekker, New York, NY.
- Heo, S.-J. dan Jeon, Y.-J. (2009). Protective effect of fucoxanthin isolated from *Sargassum siliquastrum* on UV-induced cell damage. *Journal of Photochemistry and Photobiology* **95**: 101-107.
- Hosokawa, M., Bhaskar, N., Shashima, T. dan Miyashita, K. (2006). Fucoxanthin as a bioactive and nutritionally beneficial carotenoid: a review. *Caroteneoid Science* **10**: 15-28.
- Hosokawa, M., Kudo, M., Maeda, H., Kohno, H., Tanaka, T. dan Miyashita, K. (2004). Fucoxanthin induces apoptosis and enhances the antiproliferative effect of the PPAR $\gamma$  ligand, troglitazone, on colon cancer cells. *Biochimica Biophysica Acta* **1675**(1-3): 113-9.
- Jung, M.Y., Kim, S.K. dan Kim, S.Y. (1995). Riboflavin-sensitized photodynamic UV spectrometry for ascorbic acid assay in beverages. *Food Chemistry* **53**: 397-403.
- Kotake-Nara, E., Kushiro, M., Zhang, H., Sugawara, T., Miyashita, K. dan Nagao, A. (2001). Carotenoids affect proliferation of human prostate cancer cells. *Journal of Nutrition* **131**(12): 3303-3306.
- Lee, R.E. (2008). *Phycology*. Cambridge University Press, New York. pp: 1-29.
- Lee, E.C. dan Min, D.B. (1988). Quenching mechanism of  $\beta$ -carotene on the chlorophyll sensitized photooxidation of soybean oil. *Journal of Food Science* **53**: 1894-1895.
- Lin, C.C., Lin, H.Y., Chen, H.C., Yu, M.W. dan Lee, M.H. (2009). Stability and characterisation of phospholipid-based curcumin-encapsulated microemulsions. *Food Chemistry* **116**: 923-928.
- Miyashita, K. (2002). Polyunsaturated lipids in aqueous systems do not follow our preconceptions of oxidative stability. *lipid technology. Newslett* **8**: 35.
- McClements, D.J., Decker, E.A. dan Weiss, J. (2007). Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of Food Science* **72**: 109-124.
- McClements, D.J. (2008). Lipid-based emulsions and emulsifiers. *Dalam: Akoh, C.C dan Min, D.B (ed). Food*

- Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, hal 63-97. Marcel Dekker, New York.
- Maeda, H., Hosokawa, M., Sashima, T., Takahashi, N., Kawada, T. dan Miyashita, K. (2006). Fucoxanthin and its metabolite, fucoxanthinol, suppress adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *International Journal of Molecular Medicine* **18**(1): 147-152.
- Maeda, H., Hosokawa, M., Sashima, T., Funayama, K. dan Miyashita, K. (2005). Fucoxanthin from edible seaweed, *Undaria pinnatifida*, shows antiobesity effect through UCP1 expression in white adipose tissues. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **332**(2): 392-397.
- Marti, N., Mena, P., Canovas, J.A., Micol, V. dan Saura, D. (2009). Vitamin C and the role of citrus juices as functional food. *Natural Product Communications* **4**: 677-700.
- Mukerjee, P. dan Ko, J.S. (1992). Solubilization of ethyl o-, m-, and p-aminobenzoates in micelles of different charge types: interfacial adsorption and orientation effects. *Journal of Physical Chemistry* **96**(14): 6090-6094.
- Nkhili, E. dan Brat, P. (2011). Reexamination of the ORAC assay: effect of metal ions. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **400**: 1451-1458.
- Nomura, T., Kikuchi, M., Kubodera, A. dan Kawakami, Y. (1997). Proton-donative antioxidant activity of fucoxanthin with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). *Journal of Biochemistry and Molecular Biology International* **42**(2): 361-70.
- Pena, A. dan Miller, C. (2006). Solubilization rates of oils in surfactant solutions and their relationship to mass transport in emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science* **123-126**(2006): 241-257.
- Righetto, A.M. dan Netto, F.M. (2006). Vitamin C stability in encapsulated green West Indian cherry juice and in encapsulated synthetic ascorbic acid. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **86**: 1202-1208.
- Rojas, A.M. dan Gerschenson, L.N. (2001). Ascorbic acid destruction in aqueous model systems: an additional discussion. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **81**: 1433-1439.
- Sansal, U. dan Somer, G. (1997). The kinetics of photosensitized decomposition of ascorbic acid and the determination of hydrogen peroxide as a reaction product. *Food Chemistry* **59**: 81-86.
- Sachindra, N.M., Sato, E., Maeda, H., Hosokawa, M., Niwano, Y., Kohno, M. dan Miyashita, K. (2007). Radical scavenging and singlet oxygen quenching activity of marine carotenoid fucoxanthin and its metabolites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**(21): 8516-8522.
- Serpen, A., Gökmen, V., Bahçeci, K.S. dan Acar, J. (2007). Reversible degradation kinetics of vitamin C in peas during frozen storage. *European Food Research and Technology* **224**: 749-753.
- Shiratori, K., Ohgami, K., Ilieva, I., Jin, X.H., Koyama, Y., Miyashita, K., Yoshida, K., Kase, S. dan Ohno, S. (2005). Effects of fucoxanthin on lipopolysaccharide-induced inflammation in vitro and in vivo. *Experimental Eye Research* **81**(4): 422-428.
- Szymula, M. dan J. Narkiewicz-Michałek (2009). Ascorbic acid oxidation in SDS micellar systems. *Journal of Applied Electrochemistry* **39**: 5681-687.
- Van Bree, I., Baetens, J.M., Samapundo, S., Devlieghere, F., Laleman, R., Vandenkinderen, I., Nosedá, B., Xhaveri, R. dan De Baets, B. (2012). *Modelling The Degradation Kinetics of Vitamin C in Fruit Juice in Relation to The Initial Headspace Oxygen Concentration*. *Food Chemistry* **134**: 207-2014
- Wang, X., Jiang, Y., Wang, Y.W., Huang, M.T., Hoa, C.T. dan Huang, Q. (2008). Enhancing anti-inflammation activity of curcumin through o/w nanoemulsions. *Food Chemistry* **108**: 419-424.
- Warisnoicharoen, W., Lansley, A.B. dan Lawrence, M.J. (2000). Nonionic oil-in-water microemulsions: the effect of oil type on phase behavior. *International Journal of Pharmaceutical* **198**: 7-27.
- Whiddon, C., Bunton, C. dan Söderman, O. (2003). Titration of fatty acids in sugar derived (APG) surfactants: A13 C NMR study of the effect of headgroup size, chain length, and concentration on fatty acid pKa at a nonionic micellar interface. *Journal of Physical Chemistry* **107**: 1001-1005.
- Yuan, Y., Gao, Y., Zhao, J. dan Mao, L. (2008a). Optimisation of conditions for the preparation of  $\beta$ -carotene nanoemulsions using response surface methodology. *Food Chemistry* **107**: 1300-1306.
- Yuan, Y., Gao, Y., Zhao, J. dan Mao, L. (2008b). Characterization and stability evaluation of  $\beta$ -carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization under various emulsifying conditions. *Journal of Food Research International* **41**: 61-68.