

AKTIVITAS SINGLET OXYGEN QUENCHING SENYAWA FLAVONOID DARI EKSTRAK ETIL ASETAT TONGKOL JAGUNG (*Zea mays*)

Edi Suryanto^{1*} dan Lidya Irma Momuat¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sam Ratulangi Manado

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi fraksi flavonoid dari ekstrak etil asetat tongkol jagung serta menentukan aktivitas *singlet oxygen quenching*. Tongkol jagung diekstraksi dengan cara refluks menggunakan etanol 80% selama 2 jam. Setelah itu disaring dan filtratnya diuapkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak etanol disuspensikan dalam air dan diekstraksi berturut turut dengan petroleum eter, etil asetat, butanol dan air. Fraksi pelarut terbaik difraksinasi dengan kromatografi kolom menggunakan silika gel 60 dan eluen n-heksana: etil asetat (4:6). Fraksi dievaluasi dalam *singlet oxygen quenching* dengan sistem reaksi fotooksidasi asam linoleat (0,03 M) dalam sistem emulsi yang mengandung $5,68 \times 10^{-3}$ mM eritrosin sebagai sensitiser dan campuran reaksi disinari cahaya fluorensen (4000 lux) selama 5 jam. Hasil karakteristik senyawa hasil isolasi (F2) berdasarkan hasil analisa UV-Vis terdapat 2 pita serapan pada panjang gelombang 289 nm (pita I) dan panjang gelombang 313 nm (II) yang mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi termasuk golongan flavonoid jenis flavanon atau dihidroflavon. Spektra UV senyawa terisolasi dengan pereaksi geser kemungkinan memiliki gugus hidroksi yang terletak pada atom C-5 atau C-7. Analisis spektrofotometer infra merah (IR) menunjukkan adanya bilangan gelombang 3375 cm^{-1} (OH, fenol), 2920 cm^{-1} (CH), 1462 cm^{-1} (C=C aromatik), 1604 cm^{-1} (C=O) dan 1031 cm^{-1} dan 1167 cm^{-1} (C-O-C). Isolat (F2) memiliki aktivitas *singlet oxygen quenching* (*antiphotooxidation*) terhadap fotooksidasi asam linoleat yang mengandung eritrosin sebagai sensitizer.

Kata kunci: Tongkol jagung, fraksi, flavonoid, *singlet oxygen quenching*

ABSTRACT

The objective of this research was to isolate and characterized flavonoid fractions from corn cob ethyl acetate extract and to determine the singlet oxygen quenching activity. Corn cob was extracted with a reflux method using 80% ethanol solvent for two hours. After the extraction, filtering was occurred and the filtrate was evaporated with rotary evaporator. The ethanol extract was suspended in water and continually extracted with petroleum ether, ethyl acetate, butanol and water. The best solvent fraction was fractionated with column chromatography using silica gel 60 and n-hexane and ethyl acetate (4:6) as eluent. The fraction was evaluated in singlet oxygen quenching with the photooxidation of linoleic acid (0.03 M) reaction system inside an emulsion system that contains $5,68 \times 10^{-3}$ mM of eritrosin as sensitiser and the mixed reaction was lit by a fluorescent light (4000 lux) for 5 hours. The characteristic result of the isolated compound (F2) based on the UV-Vis analysis result there are two absorpion band at 289 nm (band I) and 313 nm wavelength (band II) that indicate that the isolated compound belongs to the flavonoid group as a flavanon or a dihydroflavon type. The UV spectra of isolated compound with shifting reagent showed having a hydroxyl group located at the C-5 or C-7 atom. The infrared (IR) spectrophotometer analysis showed the wave number 3375 cm^{-1} (OH, phenol), 2920 cm^{-1} (CH), 1462 cm^{-1} (C=C aromatic), 1604 cm^{-1} (C=O) and 1031 cm^{-1} and 1167 cm^{-1} (C-O-C). The isolate (F2) has the singlet oxygen quenching activity (*antiphotooxidation*) on the photooxidation of linoleic acid that contain erythrosine as sensitizer.

Keywords: Corncob, fractions, flavonoid, *singlet oxygen quenching*

PENDAHULUAN

Jagung (*Zea mays* L.) merupakan salah satu jenis tanaman pangan yang sudah lama dikenal dan dibudidayakan di negara-negara berkembang, khususnya di Indonesia. Pemanfaatan biji jagung sebagai sumber pangan dapat menghasilkan tongkol jagung yang pada umumnya dibuang

sebagai limbah atau hanya digunakan sebagai pakan ternak dan bahan bakar dapur. Tongkol jagung merupakan bagian terbesar dari buah jagung, sehingga produksi jagung pipilan dalam jumlah yang besar dapat menghasilkan limbah tongkol jagung yang cukup banyak. Menurut Direktorat Jenderal Tanaman Pangan (2014), produksi jagung Nasional tahun 2014 mencapai,

* Korespondensi :

Telepon: +62-853-9856-6179

E-mail: edi7suryanto@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.35799/cp.9.2.2016.27988>

19,03 juta ton, dan dapat diperkirakan jumlah tongkol jagung yang dihasilkan sekitar 13 juta ton.

Tongkol jagung merupakan salah satu limbah yang biasanya tidak dipergunakan lagi ataupun nilai ekonominya sangat rendah. Padahal dari tongkol jagung masih dapat diambil komponen fitokimianya dan dimanfaatkan untuk keperluan industri pangan, farmasi dan kosmetika. Produk tanaman pangan dan non pangan mengandung sejumlah besar senyawa fenolik yang terdiri dari fenol sederhana, asam fenolat, asam fenilasetat, asam sinamat, kumarin, isokumarin, kromon, lignan, flavonoid, lignin, tanin, benzofenon, xanton, stilben, kuinon dan betacianin (Dey & Harbone, 1989).

Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan menyatakan bahwa limbah tongkol jagung mengandung senyawa fenolik yang mempunyai potensi sebagai antioksidan atau penangkal radikal bebas. Lumempouw dkk. (2012a), Lumempouw dkk. (2012b) dan Saleh dkk. (2012) melaporkan bahwa ekstrak etanol dari tongkol jagung dapat berperan sebagai antioksidan dan tabir surya (anti UV-B). Selain itu, hasil penelitian Wungkana dkk. (2013) menyatakan bahwa fraksi fenolik dari tongkol jagung dapat berperan sebagai penangkal radikal bebas DPPH dan sekaligus sebagai tabir surya. Suryanto dkk. (2013) melaporkan bahwa tongkol jagung mempunyai potensi sebagai penstabil oksigen singlet dan dapat berperan sebagai tabir surya.

Senyawa-senyawa tersebut dilaporkan dapat berfungsi sebagai antioksidan dan mempunyai manfaat besar terhadap kesehatan yakni dapat mengurangi resiko penyakit degeneratif seperti penyakit kardiovaskular, kanker, penyakit jantung koroner dan kanker (Ames dan Shigenaga, 1993; Shahidi, 1997). Hal ini disebabkan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman mengandung sejumlah besar senyawa fenolik, flavonoid, tanin, lignan dan karotenoid dan vitamin C yang memiliki kemampuan dalam penangkalan dan penghambatan *reactive oxygen species* (ROS) dan radikal bebas (Haliwell dan Guttridge, 2001). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan menguji aktivitas *singlet oxygen quenching* senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak etil asetat tongkol jagung.

METODE DAN BAHAN

Bahan dan alat

Tongkol jagung diperoleh dari kebun rakyat di Kabupaten Minahasa. Beberapa bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol, heksana, etil asetat, butanol, reagen Folin-Ciocalteu, natrium metoksida, natrium asetat, aluminium klorida, asam borat, asam klorida dan eritrosin, diperoleh dari Merck (Darmstadt, Germany). Asam galat diperoleh dari Sigma Chemical Co. (St. Lois, MO). Alat yang digunakan adalah *water bath*, desikator, alat-alat gelas, mikropipet, *vortex mixer*, pengaduk magnet, timbangan analitik, oven, botol serum, gelas Erlenmeyer, mikro buret, rotari evaporator, pengukur intensitas cahaya (light meter, Leybold-Heraeus), 4 buah lampu *flourescent* 15 Watt (Silvania), kotak cahaya (70 x 50 x 60 cm), seperangkat alat refluk, kolom kromatografi, flat TLC_{GF254}, spektrofotometer ultraviolet (Shimadzu UV-1800) dan spektrofotometer IR, (Shimadzu FTIR 8201 PC).

Preparasi sampel

Sebelum dilakukan analisis, sampel segar tongkol jagung dipotong kecil-kecil dan dikeringanginkan selama 4 minggu. Setelah kering digiling menjadi serbuk dengan alat penggiling. Setelah itu, serbuk tongkol jagung diayak dengan ukuran 40 mesh dengan kadar air sebesar 10,23% selanjutnya disimpan dalam kantong-kantong plastik sebelum diperlakukan.

Ekstraksi dan isolasi

Serbuk tongkol jagung diekstraksi menggunakan teknik ekstraksi refluk (Suryanto dkk., 2013). Sebanyak 200 g serbuk tongkol jagung diekstraksi dengan etanol 80% (2 x 2L) menggunakan cara direfluks pada suhu 80-90 °C selama 2 jam. Filtrat hasil penyaringan diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental tongkol jagung. Selanjutnya ekstrak pekat tongkol jagung dilarutkan dalam akuades dan dipartisi berturut-turut dengan petroleum eter (2 x 100 mL), etil asetat (2 x 100 mL), *n*-butanol (2 x 100 mL) dan residu (air) sehingga diperoleh ekstrak kental etil asetat dan diuji kandungan fenolik dan flavonoid. Fraksi pelarut etil asetat yang positif mengandung fenolik dan flavonoid dilanjutkan dengan pemisahan dengan kromatografi kolom menggunakan silica gel 60 dan eluen *n*-heksan dan etil asetat (6:4). Tiap fraksi dari hasil pemisahan kromatografi kolom diuji kandungan

fenolik dan flavonoid. Isolat selanjutnya dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-vis dan infra merah (IR) serta diuji aktivitas singlet oxygen quenching (SOQ).

Karakterisasi senyawa hasil isolasi

Karakterisasi senyawa hasil isolasi meliputi pemeriksaan kimia dan fisika meliputi pengujian sianidin, titik leleh, pemeriksaan UV dengan menggunakan pereaksi geser dan pemeriksaan gugus fungsi dengan spektrofotometer infra merah (FTIR)

Uji golongan flavonoid dari senyawa hasil isolasi dengan warna

Fraksi dengan aktivitas antioksidan tertinggi akan diidentifikasi dengan diuji kualitatif golongan flavonoid menurut Harborne (1987) dan Markham (1988). Sebanyak 1 mL fraksi ditambahkan 1 mL HCl pekat dan 0,5 mg serbuk Mg, uji positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah, jingga dan kuning. Sebanyak 1 mL fraksi ditambahkan dengan 1 mL AlCl_3 2%, terbentuknya warna kuning menunjukkan adanya flavonoid. Sebanyak 1 mL fraksi ditambah 3 tetes $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$ 10%, flavon memberikan warna jingga hingga krem, kalkon memberikan warna jingga tua dan auron memberikan warna merah. Sebanyak 1 mL fraksi ditambah 3 tetes NaOH 0,1 N, flavonol dan flavon memberikan warna kuning, sedangkan kalkon dan auron memberikan warna merah hingga ungu. Sebanyak 1 mL fraksi ditambah 3 tetes H_2SO_4 pekat, flavonol dan flavon memberikan warna jingga hingga krem dan kalkon memberikan warna krem hingga merah tua.

Penentuan letak gugus hidroksi (OH) senyawa hasil isolasi dengan pereaksi geser

Senyawa hasil isolasi diidentifikasi dengan spektrofotometer ultraviolet (UV), yaitu dengan penambahan beberapa tetes pereaksi geser seperti larutan NaOH 0,1 N, larutan AlCl_3 2% dan campuran larutan AlCl_3 2% dengan HCl pekat serta pereaksi geser lain seperti larutan NaOAc, larutan NaOAc + H_3BO_3 . Data pergeseran pita serapan sebelum dan sesudah ditambahkan pereaksi geser dapat menentukan posisi gugus hidroksil dalam senyawa flavonoid.

Penentuan aktivitas singlet oxygen quenching

Uji aktivitas singlet oksigen quenching dalam sistem emulsi dilakukan dengan metode Huang *et al.* (1996) dengan sedikit modifikasi.

Dibuat emulsi (o/w) 10 persen. Sebanyak 2 mL asam linoleat ditambah 0,2 mL tween 20 dan diaduk selama 1 menit, lalu ditambahkan 1,8 mL akuades sambil terus diaduk kemudian setiap 2 menit ditambahkan 4 mL akuades sebanyak 4 kali penambahan sehingga total pengadukan 9 menit. Sebanyak 2 mg masing-masing fraksi dan α -tocopherol sebagai control positif kemudian ditambahkan 10 mL emulsi yang mengandung 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ eritrosin sebagai fotosensitizer. Sampel dari campuran tersebut sebanyak 10 mL diambil dan dimasukkan ke dalam botol serum yang berukuran 30 mL yang dilengkapi dengan penutup karet dan aluminium foil. Botol tersebut kemudian diletakkan dan disimpan di dalam kotak cahaya (70 x 50 x 60 cm) dengan intensitas cahaya *fluorescent* 4.000 lux selama 5 jam dengan pengamatan setiap 1 jam. Analisis hidroperoksida diena terkonjugasi dilakukan setelah 24 jam penyinaran. Pengukuran nilai hidroperoksida diena terkonjugasi dimulai dengan memipet sampel emulsi 30 μL . Sampel tersebut dimasukan dalam tabung reaksi yang telah berisi 5 mL etanol absolut. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 234 nm. Setelah diketahui absorbansi, dengan rumus Lambert-Beer ($A = \epsilon bc$) maka dapat dicari konsentrasi hidroperoksida diena terkonjugasi karena diketahui $b = 1 \text{ cm}$, $\epsilon = 26\ 000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ untuk linoleat hidroperoksida (Frankel *et al.*, 1994).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemisahan fraksi etil asetat dengan kromatografi kolom

Selanjutnya dari fraksi etil asetat (FEA) dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom dan subfraksi yang terisolasi diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada λ 280 nm untuk senyawa fenolik (Wettasinghe & Shahidi, 2000).

Tabel 1. Kelompok fraksi hasil fraksinasi ESHAE menggunakan kromatografi kolom dan sifat-sifat dan beratnya

Kelompok fraksi	Warna	Bentuk	Berat (mg)
I	Coklat	kental	221
II	Jingga	serbuk	127
III	Kuning	kental	83
IV	Kuning	serbuk	54
V	Kuning	serbuk	61
VI	Kuning	serbuk	111

Setiap subfraksi yang memiliki profil yang sama digabung menjadi satu puncak sehingga diperoleh 6 fraksi. Hasil penimbangan fraksi dan sifat-sifatnya dapat dilihat pada Tabel 1. Berat total keenam fraksi adalah 647 mg (0,647 g), berarti ada 353 mg (0,353 g) fraksi etil asetat (FEA) yang masih tertahan dalam kolom silika gel.

Karakterisasi isolat

Karakterisasi senyawa hasil isolasi (isolat) dengan pengujian titik leleh diperoleh titik lelehnya antara (227) 255-300 °C (dekomposisi). Data ini membuktikan bahwa senyawa hasil isolasi tidak stabil karena terjadinya perubahan warna jingga menjadi merah kecoklatan pada suhu kamar. Hasil uji kualitatif golongan flavonoid dari hasil senyawa isolasi disajikan pada Tabel 2.

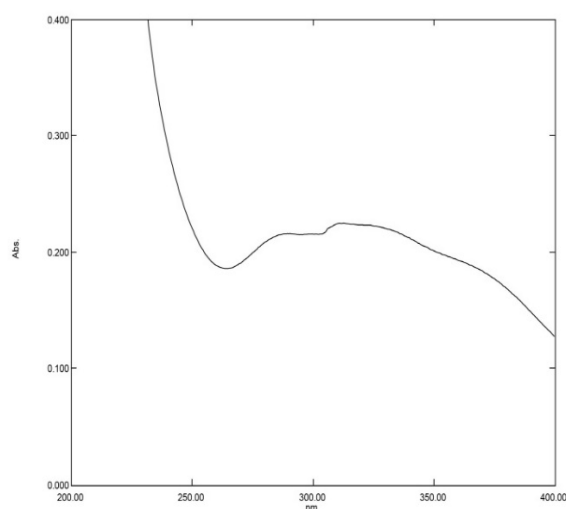
Pereaksi	Warna	Hasil flavonoid
Mg + HCl (p)	Merah muda	Ada (flavanon dan dihidroflavonol)
AlCl ₃ 2%	Kuning	Ada
(CH ₃ COO) ₂ Pb	Kuning muda	Tidak ada
NaOH 0,1 N	Kuning	Ada (flavonol dan flavon)
H ₂ SO ₄ (p)	Kuning muda	Tidak ada

Tabel 2. Uji kualitatif golongan flavonoid dari senyawa hasil isolasi dengan berbagai pereaksi

Reaksi sianidin adalah salah satu cara mengidentifikasi senyawa flavonoid dengan mereaksikannya dengan magnesium dan asam klorida. Pertama flavanoid akan direduksi gugus ketonnya menjadi alkohol, lalu terjadi dehidrasi sehingga menghasilkan garam sianidin-klorida, warna merah muda menunjukkan adanya senyawa flavanon dan dihidroflavonol. Flavonoid dapat membentuk kompleks dengan Al³⁺ yang berwarna kuning. Golongan senyawa flavonoid juga dapat bereaksi dengan NaOH dan membentuk kalkon yang berwarna kuning, warna kuning menunjukkan adanya flavanol dan flavon (Markham, 1988). Pada penambahan (CH₃COO)₂Pb 10% dan H₂SO₄ tidak menunjukkan adanya perubahan warna artinya dalam fraksi ini tidak mengandung flavonoid golongan flavonol, flavon, kalkon dan auron. Jadi diduga dalam fraksi ini mengandung senyawa flavonoid golongan flavanon dan dihidroflavonol.

Spektra ultra violet (UV)

Pengukuran dengan spektrofotometer UV didapat puncak pada panjang gelombang (λ) 313 nm (pita I) dan 289 nm (pita II) (Gambar 1). Menurut Markham (1988) senyawa flavonoid yang memiliki puncak pita I pada λ 300-330 nm dan pita II pada λ 275-295 nm adalah golongan flavanon dan dihidroflavonol. Begitu juga menurut Sujata (2005) flavonoid golongan flavanon memiliki puncak pita I pada λ 300-350 nm dan pita II pada λ 270-295 nm, sedangkan golongan dihidroflavonol memiliki puncak pita I pada λ 300-320 nm dan pita II pada 270-295 nm.



Gambar 1. Spektrum UV dari senyawa hasil isolasi

Senyawa golongan flavonoid umumnya memiliki dua pita serapan yaitu pita I dan pita II, yang disebabkan karena adanya resonansi yang melibatkan cincin B dan C (pita I) dan cincin A (pita II). Senyawa hasil isolasi ini memiliki pita I pada 313 nm karena tidak adanya ikatan rangkap terkonjugasi antara cincin B dengan gugus C=O pada posisi C-4 atau pada posisi C₂ dan C₃ (Harbone, 1969), sedangkan pada pita II pada 289 nm karena adanya ikatan rangkap terkonjugasi pada cincin A (Markham, 1988). Pola spektrum hasil isolasi diperkirakan spektrum senyawa golongan flavonoid jenis flavanon atau dihidroflavonol.

Penentuan letak gugus hidroksi dengan pereaksi geser

Pereaksi geser merupakan salah satu cara untuk membantu menganalisis jenis flavonoid, menentukan pola oksigenasi dan kedudukan gugus hidroksi pada inti flavonoid. Pada umumnya, pereaksi geser menggunakan senyawa

kimia seperti NaOCH_3 atau NaOH , NaOAc , $\text{NaOAc} + \text{H}_3\text{BO}_3$, AlCl_3 , $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$. Menurut Markham (1988), penambahan pereaksi geser seperti NaOH , AlCl_3 dan AlCl_3 dengan HCl dalam suatu flavonoid, dapat menentukan posisi gugus hidroksil (OH) pada cincin A dan B dari data pergeseran sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser. Selanjutnya untuk

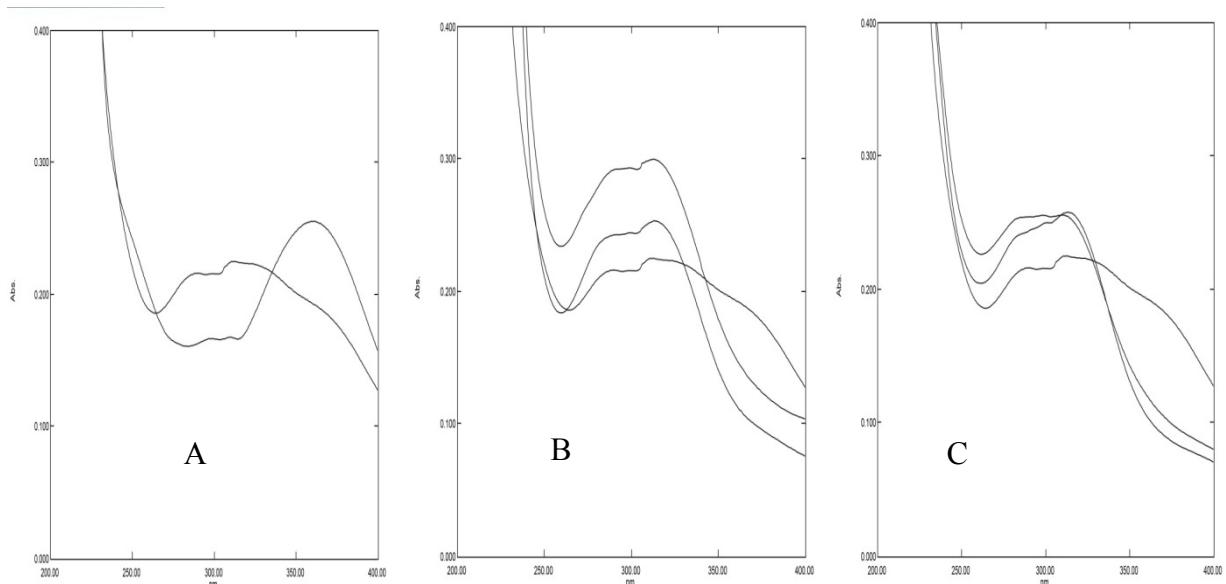
menentukan posisi gugus hidroksi (OH) pada cincin aromatis dilakukan dengan memakai pereaksi geser dan dilihat pergeseran spektrum yang terjadi. Data pergeseran λ maksimum dari spektrum UV dengan penambahan pereaksi geser dengan NaOH , NaOAc , $\text{NaOAc} + \text{H}_3\text{BO}_3$, AlCl_3 dan $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ dapat dilihat pada Gambar 2.

Tabel 3. Data panjang gelombang dan pergeseran panjang gelombang

Isolat	Panjang gelombang (nm)		Pergeseran panjang gelombang (nm)	
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II
metanol	313	289	-	-
metanol + NaOH	359	310	46	+11
metanol + NaOH (5 menit)	359	310	46	+11
metanol + NaOAc	313	285	0	-4
metanol + NaOAc+ H_3BO_3	313	299	-0,5	+10
metanol + AlCl_3	315	-	2	-
metanol + AlCl_3 + HCl	310	300	-3	+11

Spektrum serapan UV dengan penambahan pereaksi geser NaOH menyebabkan pereaksi geser batokromik pada pita I sebesar 46 nm (dari 313 nm ke 359 nm) disertai dengan peningkatan intensitas serapan. Adanya oksigenasi tambahan terutama hidroksilasi umumnya mengakibatkan pergeseran pita sesuai ke arah panjang gelombang yang lebih besar. Menurut Markham (1988) pergeseran batokromik

pada pita I sebesar 35-60 nm untuk flavonoid golongan flavanon dan dihidroflavonol merupakan ciri khas 5,7-OH pada cincin A sedangkan pergeseran pada II sebesar 11 nm (dari 289 nm ke 310 nm) tidak memberikan petunjuk penafsiran. Data menguatkan dugaan bahwa terdapat flavanon dan dihidroflavonol dengan gugus hidroksi pada cincin A.



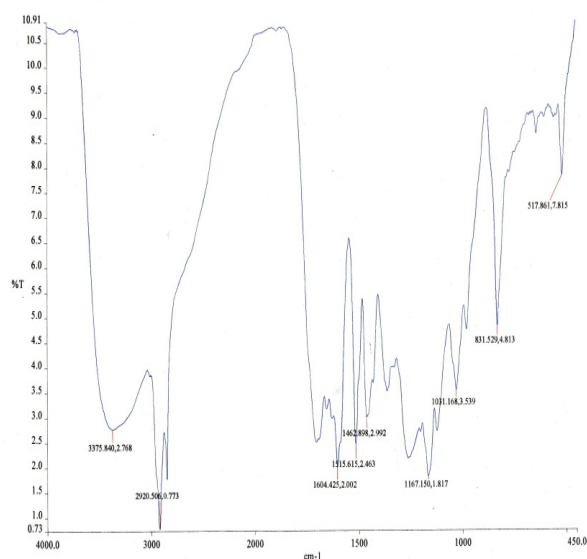
Gambar 2. Spektrum isolat dalam metanol dan penambahan NaOH (A), NaOAc dan $\text{NaOAc} + \text{H}_3\text{BO}_3$ (B) dan AlCl_3 dan $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ (C)

Spektrum dengan penambahan pereaksi geser NaOAc menyebabkan terjadinya pergeseran hipsokromik pada pita II sebesar -4 nm dan pita I

sebesar 0 nm dan Y sehingga diduga terdapat flavonoid jenis flavanon tanpa gugus hidroksi bebas. Setelah penambahan pereaksi asam borat

pada larutan senyawa dalam methanol yang telah ditambah natrium asetat pita I terjadi pergeseran hipsokromik sebesar -0,5 nm dan pergeseran batokromik pada pita II sebesar 10 nm menunjukkan adanya flavanon dengan sistem dihidrosilasi berkedudukan orto.

Penambahan pereaksi geser AlCl_3 hanya memberikan pergeseran batokromik pada pita I sebesar 2 nm sedang pada pita I tidak terdeteksi. Kemungkinan terbentuknya kompleks tahan asam (antara gugus hidroksi dan keton yang bertetangga) ataupun kompleks tak tahan asam dengan gugus orto dihidroksi pada cincin A. Setelah dilakukan penambahan HCl terjadi pergeseran hipsokromik pada pita I sebesar -3 (dari 313 nm ke 310 nm) dan pergeseran batokromik sebesar 10 nm pada pita II. Dengan penambahan pereaksi geser $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ menunjukkan gugus orto dihidroksi pada cincin B tidak dapat terdeteksi. Dari hasil ini uji kualitatif dan pereaksi geser menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi memiliki struktur hipotesis kemungkinan besar merupakan 5,7-dihidroksi flavanon atau 5,7-dihidroksi dihidroflavonol.



Gambar 3. Spektrum infra merah senyawa hasil isolasi

Spektra infra merah (IR)

Senyawa hasil isolasi selanjutnya dikarakterisasi gugus fungsinya dengan spektrofotometer infra merah (IR) disajikan pada Gambar 3. Hasil interpretasi data spektrum infra merah memberikan informasi serapan penting tentang gugus fungsi yang terdapat pada senyawa hasil isolasi. Spektrum infra merah menunjukkan adanya serapan pada daerah 3375 cm^{-1} mengindikasikan vibrasi -OH dan didukung

dengan adanya serapan C-O yang muncul pada angka gelombang $1265\text{-}1031 \text{ cm}^{-1}$.

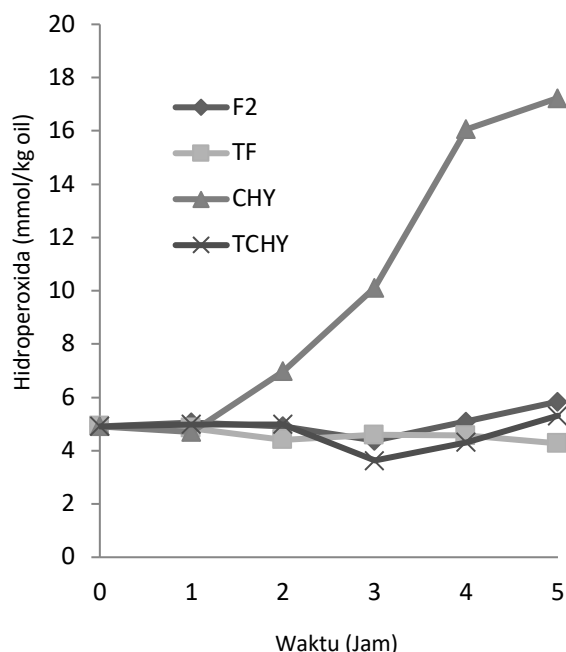
Gugus fungsi C=O muncul pada serapan 1604 cm^{-1} yang diperkuat dengan adanya serapan pada angka gelombang 927 cm^{-1} . Serapan C-H alifatis ditunjukkan pada angka gelombang 2920 cm^{-1} . Pada angka gelombang 1462 cm^{-1} menunjukkan adanya serapan C=C aromatis dan mengindikasikan adanya kromofor yang khas dari senyawa flavonoid untuk sistem ikatan rangkap terkonjugasi. Selain itu, serapan pada angka gelombang 1031 cm^{-1} dan 1167 cm^{-1} menandakan adanya vibrasi C-O-C untuk eter. Dari data tersebut secara umum dapat disimpulkan bahwa fraksi II memiliki gugus fungsi hidroksi, karbonil, eter yang terikat pada cincin aromatis.

Aktivitas singlet oxygen quenching

Pengaruh $200 \mu\text{g/mL}$ fraksi F2 terhadap fotooksidasi asam linoleat dilakukan dengan cara mengukur perubahan angka diena terkonjugasi selama penyinaran 5 jam dengan cahaya *fluorescent*. Dari perubahan angka diena terkonjugasi ini dapat diketahui tingkat kerusakan asam linoleat. Perubahan angka diena terkonjugasi asam linoleat dengan penambahan $200 \mu\text{g/mL}$ masing-masing fraksi disajikan pada Gambar 4. Dari hasil penyinaran cahaya *fluorescent* (4000 lux) terlihat bahwa asam linoleat yang diberi eritrosin sebagai sensitiser (CHY) mempunyai angka diena terkonjugasi sebesar $17,24 \text{ mmol/kg}$ minyak, sedangkan asam linoleat dengan penambahan eritrosin dan tanpa cahaya (TCHY) adalah sebesar $6,13 \text{ mmol/kg}$ minyak. Eritrosin yang diberi cahaya *fluorescent* (kontrol) menunjukkan perubahan diena terkonjugasi yang terus meningkat selama penyinaran 5 jam. Kemungkinan dapat dijelaskan bahwa eritrosin yang digunakan sebagai sensitiser dapat bertindak sebagai inisiator fotooksidasi asam linoleat dan ini dibuktikan dengan naiknya angka diena terkonjugasi asam linoleat selama penyinaran 5 jam. Asam linoleat yang diberikan eritrosin tanpa menggunakan cahaya (TC) tidak menunjukkan perubahan angka peroksida secara signifikan ($p < 0,05$). Hal ini dapat dijelaskan bahwa tanpa diberi cahaya walaupun diberikan eritrosin tak mampu menghasilkan oksigen singlet dari oksigen triplet.

Fotosensitiser seperti eritrosin (Sen) dapat menyerap cahaya dan mentransformasikan menjadi keadaan tereksitasi selanjutnya berubah menjadi sensitiser pada keadaan triplet ($^3\text{Sen}^*$) yang kurang stabil. Sensitiser dapat memindahkan energinya ke oksigen pada keadaan triplet yang

lebih stabil. Karena tingkat energi sensitiser sangat tinggi sehingga dapat mengubah oksigen triplet menjadi oksigen singlet. Selanjutnya oksigen singlet dapat menyerang ikatan rangkap yang terdapat dalam asam linoleat. Yang *et al.* (2002) melaporkan bahwa eritrosin dapat menurunkan *headspace* (oksigen triplet) dalam



Gambar 4. Aktivitas *singlet oxygen quenching* dari fraksi terhadap fotooksidasi asam linoleat mengandung 5 ppm eritrosin yang disinari cahaya *flourescent* 4000 lux selama 5 jam (TF: tokoferol)

Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa F2 mampu melindungi asam linoleat dari serangan oksigen singlet selama penyimpanan di bawah cahaya *flourescent*. Data ini memberikan bukti bahwa senyawa flavonoid yang terdapat dalam F2 dapat meningkatkan fotostabilitas dalam kondisi adanya cahaya *flourescent*. Aktivitas *singlet oxygen quenching* F2 terhadap fotooksidasi asam linoleat dibandingkan dengan α -tokoferol (TF) sebagai kontrol positif pada level 200 $\mu\text{g/mL}$. Pengaruh penghambatan dari fraksi F2 secara statistik tidak menunjukkan perbedaan aktivitas antifotooksidatif dengan TF ($p < 0,05$). Vitamin E (α -tokoferol) merupakan antioksidan alami yang banyak digunakan sebagai penghambat oksidasi lipida dalam bahan pangan. Selain itu, α -tokoferol telah dilaporkan sebagai penstabil (*quencher*) oksigen singlet dalam minyak kedele (Jung dkk., 1991). Oleh karena itu, hasil penelitian ini membuktikan bahwa oksigen singlet terlibat dalam reaksi fotooksidasi asam linoleat sehingga fraksi-fraksi memiliki

minyak kedele dengan meningkatnya konsentrasi (0, 5, 20, 100 dan 200 ppm) selama penyinaran 4 jam. Penelitian lain, menunjukkan bahwa pengaruh eritrosin terhadap metil linoleat bisa membentuk hidroperoksida, hidroperoksida ini merupakan produk utama akibat terjadinya fotooksidasi oleh sensitiser (Pan dkk., 2005) kemampuan sebagai antifotooksidatif. Min dan Boff (2002) menyatakan bahwa oksigen singlet dapat dihasilkan dari oksigen triplet dengan hadirnya sensitiser dan cahaya. Adanya sensitiser seperti eritrosin dapat meningkatkan reaksi oksidasi, karena sensitiser memiliki kemampuan untuk menyerap energi cahaya selanjutnya membentuk hidroperoksida melalui reaksi fotooksidasi.

KESIMPULAN

Senyawa hasil isolasi dari F2 memiliki serapan ultraviolet pada λ maks 289 nm dan 313 nm yang termasuk golongan flavonoid jenis flavanon dan hidroflavonol. Dengan pereaksi geser mengindikasikan bahwa F2 kemungkinan memiliki gugus hidroksi yang terletak pada cincin A benzoil nomor atom C-5 atau C-7. Analisis spectrum IR memiliki gugus fungsi pada bilangan gelombang 3375 cm^{-1} (OH, fenol), 2920 cm^{-1} (CH), 1031 cm^{-1} dan 1167 cm^{-1} (C-O-C), 1604 cm^{-1} (C=O) dan 1462 cm^{-1} (C=C aromatis). Isolat (F2) memiliki aktivitas *singlet oxygen quenching* (*antiphotooxidation*) terhadap fotooksidasi asam linoleat yang mengandung eritrosin sebagai sensitiser.

DAFTAR PUSTAKA

- Ames, B.N. & Shigenaga, M.K. 1993. Oxidants are a major contributor in cancer and aging. Dalam B. Halliwell and O.I. Aruoma (Eds). DNA and free radicals, Ellis Horwood Ltd., West Sussex, U.K.
- Amic, D., Beslo, D., Trinajstic, N. & Davidovic. 2003. Structure-radical scavenging activity relationship of flavonoids. *Croatia Chemica Acta*. 76(1), 55-61.
- Beutner, S., Bloedorn, B., Hoffman, T. & Martin, H.D. 2000. Synthetic singlet oxygen quenchers. *Methods in Enzymology*. 319, 226-241.
- Dey, P.M. & Harbone, J.B. 1989. Methods in plant biochemistry: Plant phenolics. Academic Press, London.
- Foote, C.S., Chang, Y.C. & Denny, R.W. 1970. Chemistry of singlet oxygen. X. Carotenoid

- quenching parallels biological protection. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 92(17), 5216-5218.
- Fukuzawa K. 2000. Singlet oxygen scavenging in phospholipid membranes. *Methods in Enzymology*. 319, 101-110.
- Gaulejac, N. S-C., Provost, C. & Vivas, N. 1998. Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47(2). 425-431.
- Halvorsen, B. L., Holte, K., Myhrstad, M.C.W., Barikmo, I., Hvattum, E., Remberg, S.F., Wold, A.B., Haffner, K., Baugerod, H., Andersen, L.F., Moskaug, O., Jacobs Jr., D.R. & Blomhoff, R., 2002. A systematic screening of total antioxidant in dietary plants. *Journal Nutrition*. 132(3), 461-471.
- Jeong, S.M., Kim, S.Y., Kim, D.R., Jo, S.C., Nam, K.C. Ahn, D.U. & Lee, S.C. 2004. Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(11), 3389-3393.
- Julkunen-Tiitto, R. 1985. Phenolics constituents in the leaves of Northern Willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 33(2), 213-217.
- Jung, M.Y., Kim, J.P. & Kim, S.Y. 1999. Methanol extract of *Coptis japonica* makino reduces photosensitized oxidation of oils. *Food Chemistry*. 67(3), 261-268.
- Lumempauw, L. Suryanto, E & Paendong, J. 2012. Aktivitas anti UV-B ekstrak fenolik dari tongkol jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal MIPA*. 1(1), 1-4.
- Lee, S.H & Min. D.B. 1990. Effects, quenching mechanism, and kinetic of carotenoids in Chlorophyll-Sensitized Photooxidation of Soybean Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 38(8), 1630-1634.
- Lee, K.H., Jung, M.Y. & Kim, S.Y. 1997. Quenching mechanism and kinetics of ascorbyl palmitate for the reduction of the photosensitized oxidation of oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 74(9), 1053-1057.
- Li, T.L., King, J.M. & Min, D.B. 2000. Quenching mechanisms and kinetics of carotenoids in riboflavin photosensitized singlet oxygen oxidation of vitamin D₂. *Journal of Food Biochemistry*. 24(6), 477-492.
- Markham, K.R. 1988. Cara mengidentifikasi flavonoida. Terjemahan Padmawinata, K. ITB Press, Bandung.
- Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Miliogo, J. & Nacoulina, O.G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid, and proline contents in Burkina Fasan money, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*. 91(3):571-577.
- Miller, J.M. 1975. Separation methods in chemical analytics. John Wiley Publisher, New York.
- Min, D.B. & Boff, J.M. 2002. Chemistry and reaction of singlet oxygen in foods. *Food Science and Food Safety*. 1(2), 58-72.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26(2), 211-219.
- Saleh, L.P., Suryanto, E. & Yudistira, A., 2012. Aktivitas antioksidan dari ekstrak tongkol jagung. *Pharmacon*. 1(2), 20-24
- Shahidi, F. & Naczsk, M. 1995. Food phenolics: Sources, chemistry, effects and applications. Technomic Publication Company, Inc., Lancaster.
- Stafford, H.A. 1974. Possible multienzyme complexes regulating the formation of C6-C3 phenolic compounds and lignins in higher plants. *Recent Advances in Phytochemistry*. 8, 53-79.
- Suryanto, E. 2012. Fitokimia antioksidan. Putra Media Nusantara, Surabaya.
- Suryanto, E., Momuat, L.I., Yudistira, A. & Wehantouw, F. 2013. The evaluation of singlet oxygen quenching and sunscreen activity of corncob. *Indonesian Journal Pharmacy*. 24(4), 274 – 283
- Takahama, U., Youngman, R.J. & Elsnert, E.F. 1974. Transformation of quercetin by singlet oxygen generated by a photosensitized reaction. *Photobiochemistry Photobiophys*. 7, 175-181.
- Wungkana, I., Suryanto, E. & Momuat, L.I. 2013. Aktivitas antioksidan dan tabir surya fraksi fenolik dari limbah tongkol jagung. *Pharmacon*. 2(4), 149-155.