

PENGARUH FOTOOKSIDASI TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN *VIRGIN COCONUT OIL*

Frenly Wehantouw¹, Matheda K. Roreng¹

¹Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Papua, Manokwari

ABSTRAK

Virgin Coconut Oil (VCO) merupakan produk olahan kelapa tanpa pemanasan. VCO merupakan produk yang memiliki aktivitas antioksidan. Tujuan penelitian yaitu menguji aktivitas antioksidan *Virgin Coconut Oil* yang diberikan pencahayaan. Sistem fotooksidasi menggunakan kota cahaya yang dimodifikasi menggunakan lampu fluorescen. Fotooksidasi VCO menggunakan eritrosin sebagai sensitizer. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode penangkalan radikal bebas DPPH, selanjutnya nilai IC₅₀ ditentukan menggunakan analisis probit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi VCO maka aktivitas antioksidan akan semakin tinggi, nilai IC₅₀ sebesar 12,02%. Aktivitas antioksidan *Virgin Coconut Oil* yang dicahaya selama 7 jam mengalami penurunan menjadi 96,13%. Larutan VCO yang mengandung eritrosin mengalami penurunan absorbansi sebesar 0,121 selama proses fotooksidasi. Kesimpulan penelitian ini ialah cahaya menyebabkan reaksi fotooksidasi sehingga menurunkan aktivitas antioksidan VCO.

Kata Kunci : Fotooksidasi, antioksidan, *virgin coconut oil*

ABSTRACT

Virgin Coconut Oil is a coconut processed product without heating. VCO is a product that has antioxidant activity. The research objective was to test the antioxidant activity of *Virgin Coconut Oil* under lighting. Photooxidation system using a modified light box of fluorescent light, while its antioxidant activity was tested using the DPPH free radical scavenging method, the IC₅₀ value was determined using probit analysis. The results showed that the higher the VCO concentration, the higher the antioxidant activity. Antioxidant activity of *Virgin Coconut Oil* that is exposed to light decreased to 96.13%. The absorbance of VCO solution containing erythrosine as sensitizer decreased to 0.121 due to photooxidation. The conclusion of this study is that light will cause a photooxidation reaction, thereby reducing the antioxidant activity of VCO.

Keywords: Photooxidation, antioxidant, *virgin coconut oil*

PENDAHULUAN

Tanaman kelapa merupakan salah satu tanaman pertanian yang penting di Indonesia. Luas area tanaman kelapa di Indonesia ialah 3,3 juta Ha pada 2020 yang setara dengan 2,8 juta ton kopra. Indonesia (Direktorat Jendral Perkebunan, 2020), bersama-sama dengan Philipina yang merupakan negara produsen kelapa terbesar di dunia (FAO, 2019). Kelapa ialah produk hasil pertanian yang memiliki banyak produk diversifikasi. Salah produk turunan kelapa ialah minyak kelapa yang sering dikonsumsi oleh masyarakat.

Pada beberapa tahun terakhir ini, manfaat kesehatan dari minyak kelapa mulai mendapat perhatian. Hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa komponen kimia dalam minyak kelapa mempunyai berbagai

fungsi biologis yang sangat penting bagi tubuh manusia. Fungsi biologis tersebut antara lain kemampuannya sebagai antimikroba, mencegah infeksi, antigiardia, *Cryptosporidium*, mengaktifkan sel yang sebelumnya rusak dan mengembalikan kemampuan sel menyerap gizi dan asupan vitamin (Wibowo, 2005; Kabara, 2005). Manfaat biologis inilah yang kemudian mendorong penggunaan minyak kelapa murni (*Virgin Coconut Oil*, VCO) meningkat dengan drastis.

Virgin coconut oil atau VCO adalah minyak yang dibuat dari buah kelapa segar. Minyak yang dihasilkan ini tidak berwarna dan tahan disimpan sampai beberapa bulan. *Virgin coconut oil* memiliki kandungan asam lemak tak jenuh dan asam lemak jenuh masing-masing sekitar 10% dan 90%, yang didominasi oleh asam lemak laurat yaitu sekitar 47% - 53%. Asam

lemak jenuh di dalam VCO merupakan golongan asam lemak rantai sedang (MCFA) yang lebih mudah diserap dan tidak ditimbun dalam tubuh sebagai jaringan lemak (Price, 2003). Asam lemak jenuh terutama asam laurat dan asam kaproat dengan berbagai sifat kimianya dipercaya sebagai komponen bioaktif yang berperan dalam VCO (Wibowo, 2005).

Asam laurat dilaporkan secara empiris dan ilmiah mampu membantu menyembuhkan berbagai penyakit dan dapat menurunkan kolesterol dalam hati dan jaringan lainnya serta menurunkan kadar gula darah bagi penderita diabetes (Alamsyah, 2005). Asam kaproat dapat membantu mengeluarkan insulin oleh kelenjar pankreas. Selain itu asam lemak VCO yang berantai panjang dan pendek dalam sel berfungsi sebagai sumber energi tanpa harus diurai dalam hati dan mengembalikan fungsi normal tiroid. Selama ini yang sudah banyak diketahui yaitu khasiat asam lemak dalam VCO terutama asam laurat yang dapat bermanfaat bagi kesehatan. Namun yang belum banyak disadari adalah peranan komponen minor pada VCO yang dapat berfungsi sebagai antioksidan yang belum banyak terungkap terutama peran komponen minor sebagai antiradikal bebas dan penstabil oksigen singlet. Mengingat radikal bebas dan oksigen singlet sangat reaktif dan bisa menyebabkan timbulnya sejumlah penyakit termasuk kanker, kardiovaskular, diabetes dan neurodegeneratif (Shahidi, 1997). Berdasarkan kajian tersebut belum diperoleh informasi mengenai kemampuan VCO sebagai penangkal radikal bebas dan penstabil oksigen singlet (*quencher oxygen singlet*) yang difotosensitasi oleh eritrosin. Tujuan penelitian ialah menguji kemampuan aktivitas antioksidan VCO sebagai penangkal radikal bebas DPPH dan penstabil oksigen singlet.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan adalah *Virgin Coconut Oil* (VCO) yang diperoleh dari BARISTAN-INDAG Manado. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah isopropanol dan eritrosin diperoleh dari E. Merck (Darmstadt, Germany), sedangkan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) diperoleh dari Sigma-Aldrich (St. Lois, MO).

Pengaruh konsentrasi terhadap aktivitas antioksidan VCO

Aktivitas antioksidan VCO yang diuji ialah kemampuannya untuk menangkap radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) pada berbagai konsentrasi. Penentuan aktivitas penangkal (*scavenger*) radikal bebas diukur dengan metode Espin dkk. (2000). Dua milliliter larutan DPPH 93 μ M dalam isopropanol ditambahkan 2 mL VCO dengan konsentrasi 50, 66,7, 83,3 dan 100%. Larutan VCO-DPPH tersebut kemudian diikubasi dalam ruang gelap. Tingkat berkurangnya warna dari larutan menunjukkan efisiensi penangkap radikal. Lima menit terakhir dari 30 menit, absorbansi diukur pada λ 517 nm. Aktivitas penangkap radikal bebas dihitung sebagai presentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan :

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan:

A0 kontrol = absorbansi blanko yang dikoreksi oleh kontrol blanko; A1 = absorbansi sampel yang dikoreksi oleh kontrol sampel

Selanjutnya, data yang diperoleh digunakan untuk menghitung konsentrasi inhibisi (IC₅₀)

Pengaruh fotooksidasi terhadap aktivitas antioksidan VCO

Aktivitas antioksidan VCO yang diuji ialah kemampuannya untuk menangkap radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) setelah VCO diiluminasi cahaya. Penentuan aktivitas penangkap (*scavenger*) radikal bebas diukur dengan metode Espin dkk. (2000). Lima milliliter virgin coconut oil diletakkan dalam botol serum (tinggi 60 mm x diameter 30 mm). Selanjutnya botol tersebut diiluminasi selama 7 jam dengan cahaya fluoresen pada intensitas cahaya 4500 lux (diukur dengan alat pengukur intensitas cahaya, LeyBold Heraeus). Jarak sumber cahaya fluoresen dengan sampel adalah 15 cm. Pada akhir inkubasi, aktivitas penangkap radikal bebas DPPH Aktivitas penangkap radikal bebas dihitung menurut prosedur di atas. Aktivitas antioksidan diukur setiap interval waktu 1, 3, 5 dan 7 jam.

Fotostabilitas eritrosin dalam VCO

Prosedurnya menurut metode Lee dkk., 2003 dengan sedikit dimodifikasi. Kemampuan VCO sebagai penstabil oksigen singlet menggunakan konsentrasi 10% yang

dipersiapkan dalam isopropanol dan mengandung 20 ppm eritrosin sebagai sensitiser. 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 4.500 lux. Absorbansi eritrosin diukur setiap interval waktu 0, 1, 3, 5 dan 7 jam menggunakan spektrofotometer pada $\lambda = 524$ nm.

Kotak fotooksidasi

Kotak fotooksidasi merupakan kotak yang terbuat dari kayu yang berukuran 70 x 50 x 60. Pada dasar kotak dilengkapi dengan 4 buah lampu Sylvania 15 Watt dengan intensitas 4500 lux diukur dengan light meter LeyBold-Heraeus. Bagian atas-tengah dipasang dinamo (Synchronous 5 rpm) yang memutar plat transparan yang terbuat dari mika tempat meletakkan botol serum berisi sampel.

Analisa data

Semua eksperimen dilakukan dengan tiga kali ulangan. Data aktivitas antioksidan yang diperoleh diolah secara statistik ($p < 0,05$) menggunakan software SPSS versi 20. Uji ANOVA, jika terdapat beda nyata dilanjutkan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh konsentrasi VCO terhadap aktivitas penangkal radikal bebas DPPH

Menurut Shahidi & Wanasundara (1997), penangkap radikal bebas yang bereaksi dengan radikal peroksil sebelum asam lemak tak jenuh rantai panjang bereaksi dengan radikal peroksil, dapat berperan sebagai antioksidan dan mencegah oksidasi lipida. Pengujian ini dilakukan untuk membandingkan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH dari berbagai konsentrasi VCO menggunakan metode Espin dkk. (2000) yang dimodifikasi.

Metode DPPH telah digunakan secara luas untuk memperkirakan aktivitas antioksidan dari berbagai senyawa. Hal ini dikarenakan prosedurnya sederhana, cepat dan sensitif. Radikal DPPH sendiri memiliki beberapa kelebihan, seperti murah, mudah digunakan dan bersifat stabil, tidak mengalami dimerisasi (dalam larutan tetap berbentuk monomer), serta tahan terhadap oksidasi Lee dkk. (2003).

Metode DPPH didasarkan pada penurunan nilai absorbansi akibat perubahan warna larutan. Larutan yang mula-mula berwarna ungu akan berubah menjadi kuning. Perubahan ini terjadi saat radikal DPPH ditangkap oleh antioksidan yang melepas atom hidrogen untuk membentuk DPPH-H stabil. Menurut Yen & Duh (1994), makin cepat nilai absorbansi turun, makin potensial antioksidan tersebut dalam mendonorkan hidrogen.

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi terhadap aktivitas antioksidan virgin coconut oil

Sampel (%)	Persen penangkap radikal bebas (%)*
50	80,56±0,07 ^a
66,7	95,05±0,65 ^b
83,3	96,33±0,43 ^c
100	97,50±0,79 ^d

*Nilai merupakan rerata dari 3 kali ulangan. Simbol yang sama menyatakan tidak terdapat beda nyata antar perlakuan ($p > 0,05$).

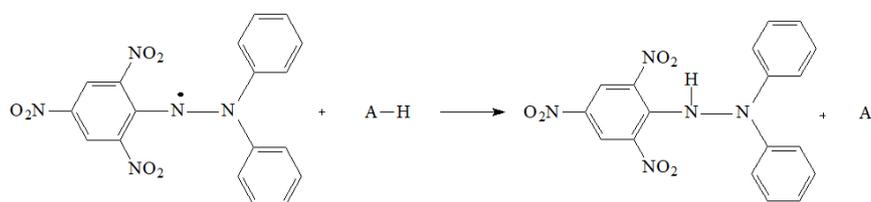
Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH VCO berbagai konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 1. Variasi konsentrasi yang digunakan ialah 50; 66,7; 83,3; 100%. Hasil persentase aktivitas penangkapan radikal bebas VCO berturut-turut adalah 80,5%; 95,05%; 96,33% dan 97,50%. Hasil ini menunjukkan

bahwa aktivitas penangkapan radikal bebas meningkat dengan bertambahnya konsentrasi VCO. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa aktivitas penangkapan radikal bebas VCO berbeda nyata antar semua perlakuan ($p < 0,05$). Kemampuan penangkapan radikal bebas VCO kemungkinan disebabkan VCO memiliki

komponen minor (komponen fenolik) yang berfungsi sebagai penangkap radikal bebas. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Yen & Duh (1994) pengaruh penangkapan radikal bebas DPPH umumnya naik dengan penambahan konsentrasi.

Hal ini membuktikan bahwa komponen minor yang terdapat dalam VCO dapat

mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas DPPH dan mengubah senyawa radikal DPPH menjadi senyawa hidrazin (DPPH-H) yang stabil. Adapun reaksi antara radikal bebas DPPH dengan senyawa fenolik ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Reaksi antara penangkalan radikal (AH) dengan radikal bebas DPPH

Selain dipengaruhi oleh jenis pelarut, aktivitas penangkal radikal bebas DPPH juga dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi. Aktivitas penangkal radikal bebas DPPH umumnya meningkat dengan penambahan konsentrasi sampai konsentrasi tertentu, kemudian aktivitasnya akan turun dengan penambahan

konsentrasi yang lebih besar lagi (Lai dkk., 2001). Data persen penangkalan radikal bebas digunakan untuk menentukan konsentrasi Inhibisi Radikal Bebas DPPH (IC_{50}). Perhitungan Konsentrasi inhibisi 50 persen radikal bebas dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

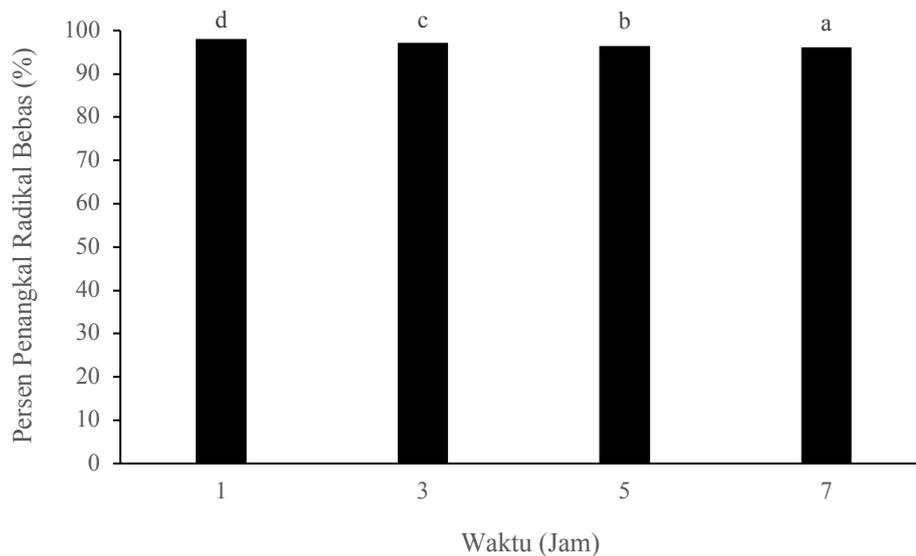
Tabel 2. Konsentrasi inhibisi radikal bebas DPPH

Perlakuan	Persamaan garis linier	Koefisien regresi (R^2)	IC_{50} (%)
2 mL VCO: 2 mL DPPH	$Y=54,742x-9,5107$	0,802	12,02

Hubungan antara konsentrasi dan persen penangkalan radikal bebas menghasilkan persamaan garis linier $Y=54,742x-9,5107$ dengan $R^2 = 0,802$. Nilai tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi memiliki hubungan yang sangat kuat, atau semakin tinggi konsentrasi maka akan semakin tinggi juga persen penangkalan radikal bebas. Hasil perhitungan IC_{50} dari persamaan garis linier di atas diperoleh nilai IC_{50} sebesar 12,02%. Hal ini mengindikasikan bahwa hanya diperlukan konsentrasi VCO sebesar 12,2% untuk menangkalkan 50% radikal bebas DPPH.

Pengaruh fotooksidasi terhadap aktivitas antioksidan VCO

Aktivitas penangkalan radikal bebas DPPH VCO yang diiluminasi cahaya dengan intensitas 4500 lux ditunjukkan pada Gambar 2. Sampel VCO yang diperlakukan dicahaya dengan cahaya fluorosen sebesar 4500 lux selama 7 jam. Aktivitas penangkapan radikal bebas VCO setelah dicahaya selama 1 jam sebesar 98,06%. Seiring bertambahnya lama pencahayaan, aktivitas penangkapan radikal bebas turun sampai 96,13% setelah 7 jam pencahayaan. Hasil analisis statistik diperoleh bahwa terdapat beda nyata aktivitas penangkal radikal bebas semua perlakuan ($p < 0,05$).

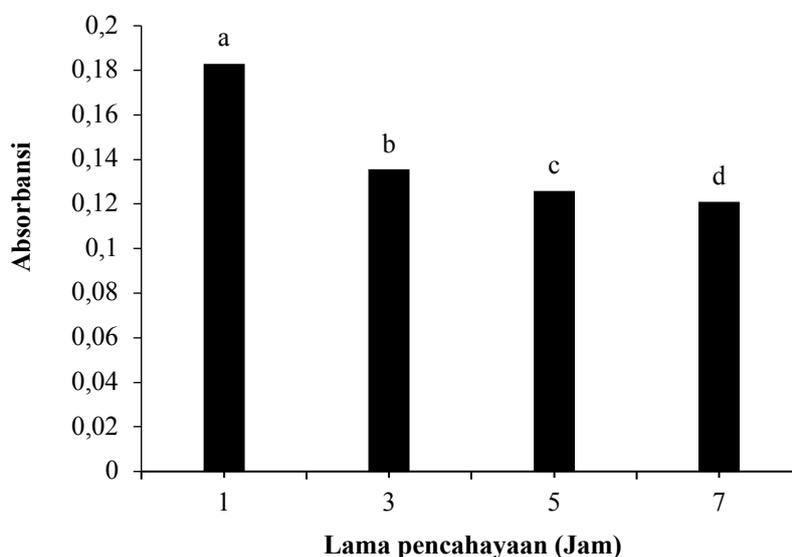


Gambar 2. Pengaruh perlakuan cahaya terhadap aktivitas antioksidan VCO. Simbol yang sama menyatakan tidak terdapat beda nyata antar perlakuan ($p > 0,05$).

Aktivitas penangkalan radikal bebas DPPH VCO yang diiluminasi cahaya 4500 lux mengalami penurunan yang tidak begitu besar seiring bertambahnya waktu iluminasi. Hal ini mungkin disebabkan komponen minor yang berfungsi sebagai antioksidan dalam VCO mengalami kerusakan yang diakibatkan adanya cahaya, sehingga menurunkan kemampuan komponen minor untuk mendonorkan atom hidrogennya pada radikal DPPH. Korycka-Dahl & Richardson (1978) menyatakan bahwa senyawa-senyawa fenol mampu menjalani oksidasi secara termal dan *photounstable*. Dari data di atas dapat diketahui bahwa cahaya memberikan kontribusi yang berarti terhadap aktivitas penangkapan radikal bebas dari VCO.

Fotostabilitas eritrosin dalam VCO

Pengujian efek eritrosin terhadap fotostabilitas VCO yang dichayai lampu fluoresen (4.500 lux) pada suhu kamar ditunjukkan pada Gambar 3. Hasil ini menunjukkan bahwa absorbansi eritrosin menurun secara signifikan selama 7 jam penyinaran dengan cahaya fluoresen. Absorbansi eritrosin sebelum disinari sebesar 1,097, kemudian mengalami penurunan menjadi 0,183 setelah dichayai selama 1 jam. Pada akhir masa pengujian, absorbansi eritrosin sebesar 0,121.

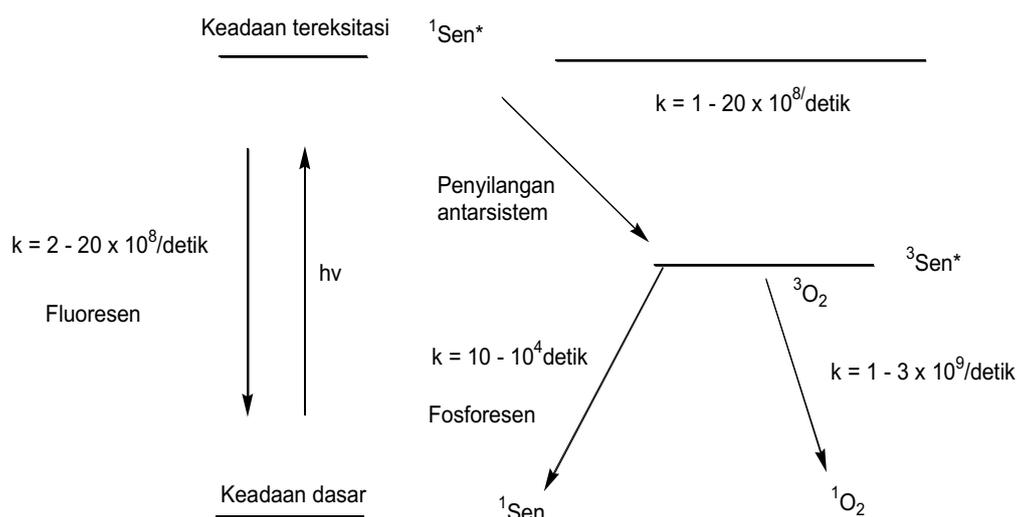


Gambar 3. Absorbansi eritrosin yang dichayai lampu fluoresen

Peristiwa ini membuktikan bahwa dekomposisi kimia dari eritrosin berhubungan positif dengan energi cahaya yang terserap. Bilgi & Demir (2005) melaporkan bahwa *Reactive Orange 16* yang disinari cahaya ultraviolet dapat menurunkan absorbansi selama 100 menit. Pine dkk. (1998) proses fotokimia merupakan penyerapan cahaya untuk menghasilkan molekul tereksitasi elektron. Pada molekul yang tereksitasi akan mengalami perubahan kimia tanpa melibatkan molekul lain atau bereaksi dengan molekul pada keadaan dasar.

Mekanisme kimia pembentukan oksigen singlet dengan adanya sensitiser, cahaya dan

triplet oksigen dapat dilihat pada Gambar 4. Menurut Min & Boff (2002) mekanisme pembentukan oksigen singlet dapat dijelaskan sebagai berikut. Fotosensitiser menyerap energi radiasi ultraviolet dan cahaya nampak secara cepat selanjutnya menjadi molekul tak stabil dan tereksitasi. Pada keadaan dasar sensitiser singlet (^1Sen) dapat menjadi suatu sensitiser singlet tereksitasi ($^1\text{Sen}^*$). Pada keadaan sensitiser singlet tereksitasi ($^1\text{Sen}^*$) dapat kembali ke keadaan dasar sensitiser (^1Sen) melalui emisi fluoresen atau berubah menjadi sensitiser triplet ($^3\text{Sen}^*$) melalui mekanisme penyilangan antarsistem (ISC).



Gambar 4. Mekanisme kimia untuk pembentukan oksigen singlet dalam hadirnya sensitiser, cahaya dan oksigen triplet (Min dan Boff, 2002)

Sensitiser triplet tereksitasi ($^3\text{Sen}^*$) dapat kehilangan besar energi melalui energi fosforesen atau melalui reaksi dengan oksigen triplet. Oksigen singlet dapat dibentuk melalui reaksi tranfer energi dari $^3\text{Sen}^*$ ke oksigen triplet melalui mekanisme interaksi triplet-triplet. Waktu hidup sensitiser triplet tereksitasi ($^3\text{Sen}^*$) lebih lama daripada sensitiser singlet tereksitasi ($^1\text{Sen}^*$). Selanjutnya untuk kembali menjadi sensitiser pada keadaan dasar (^1Sen) dapat memulai siklus lagi untuk menghasilkan oksigen singlet. DeRosa dkk. (2002) melaporkan bahwa sebuah molekul sensitiser dapat menghasilkan 10^3 sampai 10^5 molekul oksigen singlet sebelum menjadi tidak aktif atau terdegradasi melalui *photobleaching* oleh oksigen singlet atau melalui proses lain.

KESIMPULAN

Berdasarkan pengujian yang dilakukan, aktivitas antioksidan virgin coconut oil dipengaruhi oleh konsentrasi. aktivitas antioksidan dari vco dipengaruhi oleh cahaya, menurun selama proses fotooksidasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alamsyah, A.N. 2005. *Virgin Coconut Oil Minyak Penakluk Berbagai Macam Penyakit*. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Bilgi, S. & Demir, C. 2005. Identification of photooxidation degradation product of c. i. reactive orange 16 dye by gas chromatography-mass spectrometry. *Dyes and Pigment*. 66(1), 69-76.

- DeRosa, M.C. & Crutchley, R.J. 2002. Photosensitized singlet oxygen and its applications. *Coordination Chemistry Reviews*. 234(1), 351-371
- Direktorat Jendral Perkebunan. 2019. Statistik perkebunan Indonesia. <https://ditjenbun.pertanian.go.id/?publikasi=buku-publikasi-statistik-2016-2019>. Diakses 13 Juli 2021
- Espin, J.C., Soler-Rivas, C. & Wichers, H.J. 2000. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 48(1), 648-656.
- Food and Agricultural Organization (FAO). 2019. Production of coconuts. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>. Diakses 13 Juli 2021.
- Kabara, Y. E. 2005. *Health Oil From The Tree of Life (Nutritional and Health Aspect of Coconut Oil)*. <http://www.coconut-connections.com/research>. [13 Januari 2021]
- Korycka-Dahl, M.B. & Richardson, T. 1978. Activated oxygen species and oxidation of food constituents. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 10(1), 209-240.
- Lai, L-S., S-T. Chou. & Chao, W-W. 2001. Studies on the antioxidative activities of hsian-tso (*Mesona procumbens* Hemsl) leaf gum. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 49(1), 963-968.
- Lee, J.H., Ozcelik, B. & Min, D.B. 2003. Electron donation mechanism of β -carotene as a free radical scavenger. *Journal of Food Science*. 68(1), 861-865.
- Min, D.B. & Boff, J.M. 2002. Chemistry and reaction of oxygen singlet in food. *Food Science and Food Safety*. 1(1), 58-72.
- Pine, S.H., Hendrickson, J.B., Cram, D.J. & Hammond, G.S. 1998. *Organic Chemistry*. McGraw-Hill Inc., New York.
- Price, M. 2003. *Coconut Oil for Health*. Longevity Publishing House, USA.
- Shahidi, F. 1997. *Natural Antioxidants. Chemistry, Health, Effects and Applications*. AOCS Press. Champaign, Illinois.
- Shahidi, F. & Wanasundara, U.N. 1997. Measurement of Lipid Oxidation and Evaluation of Antioxidant Activity. Dalam *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects and Application* (Shahidi, eds). AOCS Press, Champaign, Illinois.
- Wibowo, S. 2005. *Cantik Berkah VCO*. Trubus. XXXVI. No. 430
- Yen, G.C. & Duh, P. 1994. Antioxidative properties of methanolic extracts from peanut hulls. *Journal Agricultural Oil Chemistry Society*. 70(1), 383-386.