

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu faktor yang menyebabkan gangguan kesehatan pada manusia yaitu keberadaan senyawa radikal bebas sebuah spesi yang tidak stabil karena memiliki elektron tidak berpasangan dan mencari pasangan elektron dalam makromolekul biologi. Protein, lipida dan DNA dari sel manusia yang sehat merupakan sumber pasangan elektron yang baik. Maka kondisi oksidasi dapat menyebabkan kerusakan protein dan DNA, kanker, penuaan, dan penyakit lainnya [1]. Oleh karena itu, tubuh membutuhkan suatu senyawa yang memiliki struktur molekul yang dapat mendonorkan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa membentuk suatu radikal kembali dan juga dapat memutuskan reaksi berantai dari radikal bebas tersebut [2].

Antioksidan mempunyai kemampuan untuk menstabilkan atau mendeaktivasi radikal bebas sebelum menyerang sel sehingga zat ini sangat penting untuk melindungi sel dari kerusakan [3]. Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi menjadi dua golongan yaitu antioksidan endogen, yang berasal dari hasil metabolisme tubuh seperti enzim superoksida-dismutase dan katalase dan antioksidan eksogen yang diperoleh dari luar tubuh seperti makanan minuman atau suplemen salah satunya yaitu vitamin C/asam L-askorbat [4].

Vitamin C atau asam L-askorbat memiliki gugus enadiol yang berperan sebagai pereduksi kuat dan memiliki empat gugus hidroksil ($-OH$) sehingga termasuk kedalam senyawa antioksidan [5]. Asam L-askorbat memiliki sifat asam dengan tingkat keasaman (pH) larutannya sekitar 2–4 [6], dengan tingkat keasaman ini dapat memberikan rasa nyeri atau perih, mual, atau tidak nyaman pada lambung disebabkan karena sifat korosif zat asam berlebih dapat mengiritasi dinding lambung [7].

Untuk menurunkan resiko tersebut dibutuhkan modifikasi asam L-askorbat dengan membentuk buffer garam. Salah satu jenis mineral yang aman digunakan untuk penetralan vitamin C adalah kalsium yang dapat ditemukan secara alami dalam makanan [8]. Reaksi antara asam L-askorbat dan kalsium akan membentuk

garam kalsium L-askorbat yang memiliki sifat antioksidan mirip dengan asam L-askorbat dengan derajat keasamannya (pH) lebih netral [9].

Pada umumnya asam L-askorbat biasa digunakan dalam stabilitas produk berbasis air, kelarutannya dalam air pada temperatur 25 °C yaitu 200 g/L sehingga bersifat hidrofilik. Sifat hidrofilik asam L-askorbat dapat mengurangi efektivitas dalam menstabilkan produk berbasis lemak dan minyak sehingga keberadaannya dalam tubuh mudah terekresikan dalam urin [7]. Untuk mengatasi masalah stabilitas tersebut, maka perlu dilakukan modifikasi melalui reaksi esterifikasi dengan suatu asil donor membentuk senyawa ester L-askorbil yang memiliki sifat yang mirip dengan asam L-askorbat sebagai antioksidan dengan stabilitas dalam produk berbasis minyak dan lemak yang tinggi sehingga keberadaannya dalam tubuh dapat bertahan lebih lama [10].

Sintesis ester L-askorbil memiliki sifat yang mirip dengan asam L-askorbat sebagai antioksidan, pada penelitian sebelumnya diketahui dari produk *palm-based* ester L-askorbil hasil sintesis memiliki nilai IC_{50} 100 ppm [11], dan pada penelitian lainya diketahui produk *oil-based* ester L-askorbil hasil sintesis memiliki nilai IC_{50} 66,3 ppm [12], hasil tersebut menunjukkan ester L-askorbil dapat bertindak sebagai senyawa antioksidan. Keberadaan asil donor melalui reaksi esterifikasi mengganti salah satu gugus hidroksil pada asam L-askorbat menjadi bentuk ester sehingga ester L-askorbil memiliki stabilitas dalam produk berbasis minyak dan lemak yang tinggi [13].

Komponen utama dalam reaksi pembuatan ester L-askorbil yaitu asil donor suatu karboksilat dan asil *acceptor* suatu alkohol. Berbagai jenis donor asil digunakan untuk sintesis ester L-askorbil seperti asam lemak, ester asam lemak, vinil ester asam lemak, dan trigliserida [14]. Penggunaan asam lemak murni atau ester asam lemak untuk sintesis ester L-askorbil relatif mahal, maka untuk menurunkan biaya produksi dibutuhkan alternatif substrat yang lebih murah diantaranya: lemak hewani dan minyak nabati [12].

Beberapa penelitian telah menggunakan minyak zaitun [15], lemak babi [16], minyak sawit [11] dan minyak kedelai [17] sebagai asil donor. Pengembangan varian minyak sebagai asil donor masih sangat luas, maka dari itu pada penelitian ini dipilih penggunaan minyak kelapa murni atau *virgin coconut*

oil (VCO) sebagai asil donor dalam reaksi esterifikasi melihat Indonesia sebagai negara tropis dengan pasokan pohon kelapa yang sangat luas [18]. Sekitar sembilan puluh persen dari *virgin coconut oil* (VCO) terdiri dari lemak jenuh, lemak jenuh yang terkandung tersebut merupakan trigliserida rantai menengah yang terasimilasi (dapat diterima tubuh) dengan baik dalam sistem tubuh. Asam laurat adalah kontributor utama yang meliputi lebih dari empat puluh persen, diikuti oleh asam kaprat, asam kaprilat, asam miristat, dan palmitat [19].

Reaksi esterifikasi dapat berjalan tanpa atau dengan katalis, baik itu secara kimiawi menggunakan katalis asam/basa, tetapi dikarenakan reaksi berjalan pada suhu tinggi dan reaksi nonregioselektif dapat mengakibatkan asam L-askorbat teroksidasi dan terdegradasi sehingga mempengaruhi produk yang dihasilkan menjadi lebih sedikit [20]. Dapat juga dilakukan secara enzimatik menggunakan enzim sebagai biokatalisator dimana reaksi regioselektivitas dan efektivitasnya yang tinggi serta kemampuan mengarahkan reaksi secara spesifik ke arah produk yang diinginkan dapat mencegah oksidasi asam L-askorbat dan esternya selama reaksi tanpa terjadinya reaksi samping yang merugikan dan lebih ramah lingkungan [21].

Pada proses esterifikasi, enzim yang berperan sebagai biokatalis adalah lipase yang merupakan jenis enzim hidrolase yang dapat menghidrolisis ikatan gliserida pada trigliserida minyak atau lemak. Pada kondisi tertentu, lipase juga dapat mengkatalisis reaksi kebalikan dari hidrolisis, yaitu reaksi esterifikasi [22]. Pada reaksi esterifikasi ester askorbil secara enzimatik memiliki parameter operasi yang sempit. Perubahan kondisi lingkungan yang ekstrim dapat menyebabkan deaktivasi protein enzim, maka dari itu perlu dilakukan optimasi lingkungan untuk menghasilkan produk ester tertinggi [11, 23]

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, menunjukkan bahwa turunan asam L-askorbat dalam bentuk senyawa ester L-askorbil dan kalsium L-askorbat memiliki potensi sebagai senyawa antioksidan dengan stabilitas yang ditingkatkan. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan sintesis kalsium L-askorbat dan ester L-askorbil secara enzimatik dengan menggunakan *virgin coconut oil* (VCO) sebagai asil donor, kemudian dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH untuk didapatkan nilai IC₅₀ sehingga diketahui

kemampuan antioksidanya. Karakterisasi ester L-askorbil menggunakan spektrofotometer FT-IR, sehingga dapat diketahui gugus fungsi yang terbentuk pada produk sintesis yang telah dilakukan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka permasalahan yang perlu dirumuskan adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana kemampuan enzim lipase hasil ekstraksi biji bunga matahari sebagai biokatalisator reaksi esterifikasi ester L-askorbil?
2. Bagaimana pengaruh waktu reaksi, konsentrasi enzim (berat terhadap substrat), serta rasio konsentrasi (asam L-askorbat: VCO) terhadap persentase produk ester L-askorbil yang dihasilkan?
3. Bagaimana nilai uji aktivitas antioksidan pada hasil sintesis Ester L-Askorbil dan garam kalsium L-askorbat dengan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH)?
4. Bagaimana karakter produk hasil sintesis ester L-askorbil?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan permasalahan yang telah dirumuskan, pengujian ini akan dibatasi pada beberapa masalah berikut:

1. Sumber enzim lipase berasal dari biji bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) komersil.
2. Sampel yang digunakan sebagai asil donor untuk sintesis ester L-askorbil berasal dari *virgin coconut oil* (VCO) komersil.
3. Sumber mineral dalam reaksi netralisasi asam L-askorbat merupakan mineral kalsium (Ca) dalam bentuk CaCO_3 (*merck*).
4. Variasi yang digunakan untuk mencari kondisi optimal sintesis ester L-askorbil yaitu variasi waktu reaksi, konsentrasi enzim, dan rasio konsentrasi (asam L-askorbat: VCO).
5. Parameter pengujian yang dilakukan adalah uji aktivitas antioksidan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) dengan pembacaan melalui spektrofotometer UV-VIS

6. Karakterisasi hasil produk sintesis ester L-askorbil menggunakan instrumentasi FT-IR.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah yang diajukan, tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menentukan kemampuan enzim lipase hasil ekstraksi biji bunga matahari sebagai biokatalis reaksi esterifikasi ester L-askorbil.
2. Menentukan kondisi optimal untuk menghasilkan % produk terbesar pada pembuatan ester L-askorbil.
3. Mengetahui nilai uji aktivitas antioksidan ester L-askorbil dan garam kalsium L-askorbat.
4. Mengetahui karakter produk hasil sintesis ester L-askorbil.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dan memberikan informasi ilmiah mengenai turunan vitamin C dalam bentuk ester dan garam yang lebih aman dikonsumsi dan stabilitasnya dalam tubuh lebih kuat sehingga perannya sebagai antioksidan untuk memerangi radikal bebas dalam tubuh lebih optimal.

