

Isolasi dan mikroenkapsulasi vitamin E dari crude palm oil sebagai sumber antioksidan bahan pangan

Isolation and microencapsulation of vitamin E from crude palm oil as source of food antioxidant

Irma KRESNAWATY^{*)}, Asmini BUDIANI, TRI-PANJI & SUHARYANTO

Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, Jl. Taman Kencana No. 1 Bogor 16151, Indonesia

Diterima tanggal 14 Mei 2012/disetujui tanggal 24 September 2012

Abstract

In order to increase value added and to support downstream industry of palm oil, minor components of the oil such as β -carotene and vitamin E should be utilized. Vitamin E is a high value vitamin that could be used as material for pharmaceutical and nutraceutical products. Technological constraints encountered in the utilization of vitamin E from CPO are lack of optimal extraction and purification method as well as the way to stabilize of the product. The research was conducted to find optimal extraction and purification method of vitamin E from CPO and microencapsulation method of vitamin E as pharmaceutical and nutraceutical product. The research showed that vitamin E could be recovered from CPO by several steps process including saponification using NaOH, separation of unsaponificated solution, followed by dissolution using 2-propanol in hexane and extraction using methanol. Raw extract of vitamin E was then purified by column chromatography with stationary phase of silica gel and mobile phase (eluent) of petroleum benzene/diethyl ether/acetic acid 70 : 30 : 0,2. Purified vitamin E could be collected as fraction 4-8. Vitamin E obtained had similar antioxidant activity as in pure vitamin E (Sigma) and vitamin C. Microencapsulation method could be conducted using arabic gum as coating material followed by spray drying and resulted IC_{50} -DPPH value 132.55 ppm which considered middle activity category.

[Keywords: CPO, vitamin E, saponification, antioxidant, microencapsulation].

Abstrak

Untuk meningkatkan nilai tambah dan mengembangkan industri hilir minyak kelapa sawit (CPO), komponen minor minyak tersebut seperti vitamin E dan β -karoten perlu dimanfaatkan. Vitamin E merupakan produk bernilai ekonomis tinggi sebagai bahan farmaseutikal dan nutrasetikal. Kendala yang dihadapi dalam pemanfaatan vitamin E dari CPO, yaitu belum tersedianya teknik ekstraksi dan purifikasi yang optimal dan cara mempertahankan stabilitas vitamin E. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh teknik ekstraksi dan purifikasi vitamin E dari CPO dan teknik mikroenkapsulasi vitamin E sebagai bahan farmaseutikal dan nutrasetikal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa vitamin E dapat diproduksi dengan beberapa tahapan yakni saponifikasi dengan NaOH, pemisahan lapisan pekat tak tersabunkan, pelarutan dengan

2-propanol dalam heksana, ekstraksi dengan metanol dan pelarutan ekstrak dengan 2-propanol dalam heksana. Ekstrak kasar vitamin E dimurnikan dengan kromatografi kolom dengan fasa diam silika gel dan fasa gerak petroleum benzen/dietil eter/asam asetat = 70 : 30 : 0,2. Vitamin E dapat dimurnikan pada fraksi ke-4 sampai dengan ke-8. Aktivitas antioksidan vitamin E hasil ekstraksi tersebut setara dengan vitamin E murni (Sigma). Teknik mikroenkapsulasi vitamin E hasil ekstraksi dari CPO dapat dilakukan dengan penyalut gum arab dan pengeringan dengan *spray dryer* yang menghasilkan antioksidan dengan aktivitas IC_{50} DPPH = 132,55 ppm yang termasuk kategori beraktivitas sedang.

[Kata kunci: CPO, vitamin E, saponifikasi, antioksidan, mikroenkapsulasi]

Pendahuluan

Minyak sawit (CPO) memiliki potensi besar untuk dikembangkan menjadi produk farmaseutikal dan nutrasetikal, di antaranya karena kandungan vitamin E. Kandungan vitamin E yang terdapat pada kelapa sawit didominasi oleh tokoferol. Jenis vitamin E lainnya, tokotrienol pada kelapa sawit bahkan lebih tinggi dibandingkan dengan sumber lain, seperti, minyak kacang, padi, *barley*, gandum, jagung, kapuk, bunga matahari, dan kacang-kacangan (Abidi, 2003; Colombo, 2010; Patel *et al.*, 2011). Vitamin E di dalam minyak sawit berkisar antara 600 – 1.000 ppm, bahkan pada residu minyak serabut sawit kandungan vitamin E mencapai 2.000-4.000 ppm (Han Ng *et al.*, 2004).

Vitamin E memiliki banyak manfaat bagi kesehatan manusia, selain sebagai komponen vitamin, vitamin E dapat juga digunakan sebagai senyawa antikanker, mencegah penuaan dini, mencegah penyakit kardiovaskuler, dan kegunaan lainnya. Selama ini senyawa ini masih diimpor dari Malaysia, karena memang baru Malaysia yang mengembangkan bahan farmaseutikal dari industri sawit. Sesuai dengan kebijakan pemerintah untuk lebih mendorong industri hilir kelapa sawit dan meningkatkan nilai tambah ekonomi, maka Indonesia perlu untuk mengembangkan produk vitamin E dari kelapa sawit. Ekstraksi vitamin E dari minyak sawit merupakan

^{*)} Penulis korespondensi: irma.kresnawaty@yahoo.com

bahasan yang penting untuk diteliti.

Berbagai cara dikembangkan untuk mendapatkan vitamin E dari minyak sawit, tetapi kompleksitas struktur dan variasi yang luas, menyebabkan perlunya teknik analisis untuk isolasi, diferensiasi dan kuantifikasi masing-masing komponen dari campuran yang diperoleh dari suatu sampel. Ekstraksi umum yang digunakan adalah dengan menggunakan saponifikasi alkali dan ekstraksi fraksi yang tidak tersaponifikasi dengan dietil eter yang diikuti oleh analisis penentuan dengan kromatografi cair (Halodin *et al.*, 2001). Selain itu, vitamin E juga memiliki sifat yang sangat labil terhadap panas dan reaksi oksidasi. Oleh karena itu perlu dilakukan upaya untuk melindungi senyawa tersebut dari lingkungan sekitarnya yang dapat menyebabkan terjadinya reaksi oksidasi. Salah satu upaya yang dapat dilakukan, yaitu dengan cara melindunginya dalam matriks polimer yang biasanya disebut dengan proses enkapsulasi dan jika matriks yang melindungi merupakan matriks yang berukuran 1 µm sampai beberapa milimeter disebut mikroenkapsulasi (Zhuidam & Shimoni, 2010).

Penggunaan teknologi mikroenkapsulasi terhadap komponen bioaktif dapat meningkatkan stabilitas fisik komponen bioaktif tersebut, melindungi dari kerusakan kimiawi, melindunginya dari interaksi dengan bahan tambahan makanan (*food ingredient*) (Gardjito *et al.*, 2006), dan dapat terdispersi dengan baik dalam sistem *aqueous*. Teknologi enkapsulasi dalam skala ukuran mikro akan mampu meningkatkan aktivitas antioksidan vitamin E melalui transfer massa (senyawa bioaktif) melalui dinding sel. Mikroenkapsulasi vitamin E minyak sawit akan menghasilkan produk dalam bentuk bubuk yang memiliki kandungan antioksidan dengan stabilitas yang tinggi selama penyimpanan. Penelitian ini bertujuan melakukan isolasi vitamin E dari minyak sawit dengan teknik mikroenkapsulasi.

Bahan dan Metode

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah CPO segar diperoleh dari pabrik kelapa sawit Kertajaya-PTPN VIII, etanol, metanol, NaOH, NaCl, *Buthylated hydroxyl toluene* (BHT), 2-propanol, heksana, zeolit, silika gel, tetrahidrofur, benzena, dietil eter, asam asetat, gum arab, kitosan, sodium tripolifosfat dan DPPH.

Optimasi saponifikasi vitamin E

Sebanyak 20 g minyak sawit disaponifikasi dalam tabung tertutup dengan penambahan etanol

95% (10, 20, 30 dan 60 mL) dan NaOH (10 g/L) (10, 20, 30 dan 60 mL) dan 50 mL BHT (60 g/L). Tabung ditempatkan dalam penangas air suhu 70°C selama 45 menit dan setiap 5-10 menit larutan dikocok selama proses saponifikasi. Setelah digesti alkali pada suhu 70°C selama 45 menit, tabung didinginkan dalam penangas es dan ditambahkan NaCl (10 g/L) (100, 150 dan 200 mL). Hasil saponifikasi dimasukkan dalam corong pemisah, bagian atas adalah fraksi minyak yang tak tersabunkan, di tengah adalah fraksi minyak yang tersabunkan dan bagian bawah fraksi air (ESA, 2002).

Optimasi ekstraksi vitamin E

Sebanyak 5 g sampel hasil saponifikasi dihomogenkan menggunakan vortex dengan 70 mL metanol pekat sehingga terbentuk dua fasa. Supernatan dipisahkan menggunakan corong pisah. Residu diekstraksi kembali dengan variasi metanol-air dan endapan dilarutkan kembali dalam 20 mL 2-propanol (1%) dalam heksana.

Pemurnian vitamin E

Pemurnian vitamin E dilakukan dengan kolom kromatografi (1,5 x 22 cm) menggunakan fase diam berupa zeolit serbuk aktif dan silika gel (20 g). Aktivasi zeolit dilakukan dengan pemanasan suhu 250°C selama empat jam. Fase diam diisi dalam kolom setinggi 18 cm. Eluen yang digunakan yaitu n-heksan : 2-propanol : tetrahidrofur (THF) 100 : 0,4 : 6 dan petroleum benzen : dietil eter : asam asetat (70 : 30 : 0,2). Pertama fase diam dijenuhkan dengan eluen agar fase diam memadat, kemudian sampel hasil ekstraksi vitamin E (15 mL) dilewatkan dalam kolom dan ditunggu sampai diperoleh fraksi-fraksi berwarna kuning. Setiap fraksi ditampung sebanyak 5 mL. Bila eluen untuk fase bergerak berkurang ditambahkan lagi hingga warna kuning memudar. Penampungan fraksi diakhiri setelah warna fraksi menjadi jernih seperti eluen yang digunakan. Setiap fraksi kemudian diuji dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam silika gel (20 x 20 cm) (Merck). Sampel sebanyak 3 µL dipisahkan dengan KLT menggunakan eluen yang sama dengan yang digunakan untuk pemurnian vitamin E. Visualisasi spot KLT dilakukan dengan iodine serbuk di dalam cawan Petri diameter 9 cm. Fraksi terbaik digunakan untuk percobaan mikroenkapsulasi. Produk vitamin E yang dihasilkan dianalisis menggunakan HPLC.

Mikroenkapsulasi vitamin E

Sebanyak 72 g serbuk gum arab dilarutkan ke dalam 3 L etanol. Kemudian 30 mL vitamin E hasil fraksinasi terbaik dari kromatografi kolom ditambahkan ke dalam larutan dan diaduk sampai homogen. Campuran tersebut kemudian dikeringkan dengan *spray dryer* pada suhu masukan 200⁰C dan suhu keluaran adalah 80⁰C selama dua jam dan *freeze dryer* pada suhu -5⁰C selama 20 jam. Selain gum arab, juga digunakan penyalut lain berupa kitosan. Sebanyak 40 g kitosan dilarutkan dalam 2000 mL asam asetat 2% (b/v). Campuran diaduk dengan *magnetic stirer* selama 30 menit untuk mempercepat pelarutan. Suspensi larutan ditambahkan 1000 mL sodium tripoli fosfat (STPP) 0,5% dalam akuades. Kemudian dihomogenkan dan ditambahkan ekstrak vitamin E. Campuran ini dikeringkan dengan *spray dryer* untuk mendapatkan produk vitamin E serbuk.

Uji aktivitas antioksidan

Aktivitas antioksidan diuji berdasarkan penangkapan radikal bebas menggunakan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Larutan DPPH 0,01 M dibuat dengan melarutkan 39,5 mg DPPH dalam 100 mL metanol. Kemudian dibuat larutan kontrol DPPH dengan cara sebanyak 0,1 mL larutan DPPH 0,01 M diencerkan dengan metanol p.a sampai 5 mL. Sampel mikrokapsul dilarutkan sesuai dengan pelarutnya sehingga diperoleh konsentrasi 0, 20, 40, 60, 80, 100, 200 ppm. Kemudian sebagai baku pembanding dibuat larutan vitamin C dengan konsentrasi 0,1; 2,5 ; 5 ; 7,5 ; 10 ppm.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menambahkan 0,1 mL DPPH 0,01 M ke dalam deret sampel dan baku pembanding vitamin C, kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 30 menit. Absorban larutan diperiksa menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 515 nm. Warna DPPH akan berubah dari ungu menjadi kuning apabila ekstrak mengandung antioksidan. Aktivitas antioksidan dihitung berdasarkan persentase inhibisi (*inhibition concentration*) yang diwakili oleh nilai IC₅₀ dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Persen inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi}_{\text{DPPH}} - \text{Absorbansi}_{\text{Ekstrak}}}{\text{Absorbansi}_{\text{DPPH}}} \times 100\%$$

Dari nilai persen inhibisi sebagai ordinat (y) dan konsentrasi ekstrak sebagai absis (x) maka dapat dibuat kurva persamaannya dan ditentukan konsentrasi sampel saat persen inhibisi mencapai 50% (IC₅₀).

Hasil dan Pembahasan

Optimasi saponifikasi vitamin E

Proses isolasi terdiri dari saponifikasi, ekstraksi, dan analisa kualitatif. Saponifikasi dilakukan untuk memisahkan komponen minyak dan vitamin E yang biasanya larut di dalamnya. Komponen minyak akan tersaponifikasi (tersabunkan) karena reaksi basa kuat dengan asam lemak. BHT digunakan sebagai antioksidan untuk mencegah reaksi oksidasi vitamin E yang sudah terpisah dari lemak. Optimasi tahap saponifikasi menggunakan variasi volume NaOH, etanol dan NaCl. Variasi terbaik didapat dari kombinasi F (Tabel 1) dengan komposisi 60 mL NaOH, 20 mL etanol dan 150 mL NaCl yang lebih banyak bereaksi dengan protein dan minyak, sehingga vitamin E dapat dipisahkan lebih sempurna.

Fraksi minyak yang tersaponifikasi dan air dipisahkan, kemudian residu ditambahkan 2-propanol 1% dalam heksana dan menghasilkan dua fasa (Gambar 1). Fraksi larut heksana kemudian ditambahkan metanol untuk menghilangkan sisa minyak. Ekstraksi dengan metanol dilakukan beberapa kali untuk memurnikan vitamin E yang dihasilkan. Gambar 2 menunjukkan hasil analisis kualitatif vitamin E dengan KLT fase padat silika gel dan fase bergerak heksana/2-propanol/tetrahidrofur dari setiap tahapan ekstraksi. Spot KLT dari hasil ekstraksi dengan metanol mendekati pola spot standar tokoferol yang menunjukkan adanya kandungan vitamin E pada ekstrak yang dihasilkan.

Optimasi ekstraksi vitamin E

Untuk mendapatkan vitamin E yang lebih murni, dilakukan variasi pelarut ekstraksi dengan berbagai variasi perbandingan metanol dengan air untuk menghilangkan sisa minyak pada hasil saponifikasi. Analisis kualitatif menunjukkan bahwa ekstraksi vitamin E terbaik yaitu menggunakan metanol: air = 2:3 yang ditunjukkan dengan pemisahan yang lebih sempurna dan spot KLT yang lebih pekat (Gambar 3 dan 4).

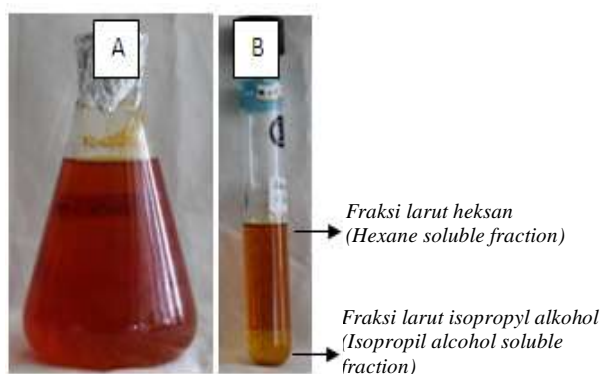
Optimasi pemurnian vitamin E

CPO saponifikasi yang telah diekstrak dengan metanol : air = 2:3 dimurnikan menggunakan kolom kromatografi untuk memperoleh tokoferol yang terpisah dari senyawa lain seperti beta-karoten. Hasil kromatografi kolom diuji kualitatif menggunakan dua variasi eluen, yaitu : 1) petroleum benzena : dietil eter : asam asetat (70 : 30 : 0,2) (Gambar 5),

Tabel 1. Optimasi proses saponifikasi CPO dengan variasi volume NaOH, etanol dan NaCl.

Table 1. Optimization process of CPO saponification in different amount of NaOH, ethanol and NaCl.

Kode perlakuan (Treatments codes)	NaOH (mL)	EtOH (mL)	NaCl (mL)	Volume ekstrak yang tak tersabunkan Volume unsaponificated extracts (mL)	Volume bahan tak tersabunkan setelah pengeringan Volume. unsaponificated extracts after drying (mL)
A	20	20	150	155	27,5
B	10	10	150	189	30
C	20	30	150	177	22
D	10	20	150	138	25
E	30	20	150	168	27,5
F	60	20	150	213	35
G	20	10	150	191	21
H	20	30	150	194	22
I	20	60	150	205	25
J	20	20	150	216	22,5
K	20	20	100	172	25
L	20	20	200	209	29,5



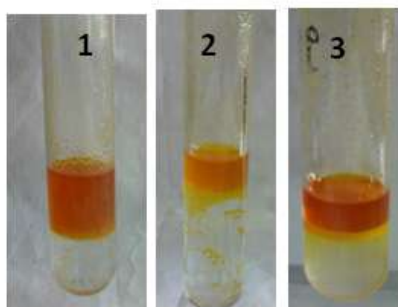
Gambar 1. Fraksi yang tidak tersabunkan (A) dan setelah penambahan 2-propanol 1% dalam heksana (B).

Figure 1. Unsaponified fraction (A) and after addition of 1% 2-propanol in hexane (B).



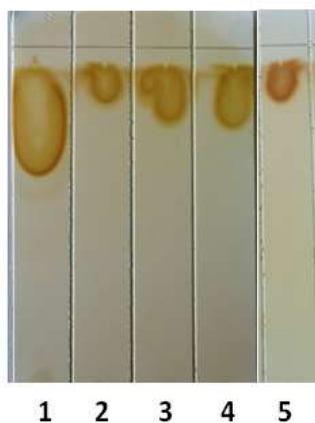
Gambar 2. Analisis kualitatif vitamin E hasil tahapan ekstraksi. 1) Fraksi hasil saponifikasi, 2) Fraksi bawah (air), 3) Fraksi larut heksana, 4) Hasil ekstraksi metanol dalam fraksi heksana, dan 5) Standar alfa-tokoferol.

Figure 2. Qualitative analysis of vitamin E from each extraction stage : 1) Saponification fraction, 2) bottom fraction (water), 3) hexane soluble fraction, 4) methanol extraction fraction, and 5) vitamin E standard



Gambar 3. CPO hasil saponifikasi yang diekstrak dengan 1) metanol : air (3:2); 2) metanol : air (3:1); dan 3) metanol : air (2:3).

Figure 3. CPO saponification product were extracted with: 1) methanol: water (3:2), 2) methanol: water (3:1), and 3) methanol: water (2:3).



Gambar 4. Analisis kualitatif vitamin E hasil ekstraksi dengan metanol: 1) standar α -tokoferol, 2) metanol:air (3:2), 3) metanol : air (3:1), 4) tanpa air dan 5) metanol : air (2:3).

Figure 4. Qualitative analysis of extracted vitamin E with variation of methanol concentration: 1) standard α -tocopherol, 2) methanol: water (3:2), 3) methanol: water (3:1), 4) without water and 5) methanol: water (2 : 3).

dan 2) n- heksana : THF : 2-propanol (1000 : 60 : 4) (Gambar 6). Dari hasil pengamatan pemisahan dengan eluen pertama (Gambar 5) belum terlihat pemisahan spot yang mendekati standar tokoferol karena pada sampel spot beta-karoten dan spot tokoferol masih menyatu. Senyawa beta karoten lebih bersifat non polar dibandingkan dengan tokoferol, sehingga digunakan eluen kedua yang bersifat lebih polar untuk pemisahan kedua senyawa tersebut.

Visualisasi pemurnian tokoferol dengan eluen yang kedua memperlihatkan pemisahan yang cukup

baik, terlihat dari pemisahan yang cukup jelas antara beta karoten dengan tokoferol (Gambar 6). Senyawa beta karoten pada sampel terbawa terlebih dahulu oleh eluen dan tertampung pada fraksi-fraksi awal (1-3). Gambar 6 memperlihatkan spot non tokoferol yang diduga adalah didominasi oleh beta karoten. Pada fraksi keempat spot KLT menunjukkan spot yang mirip dengan standar tokoferol dan telah terpisah dari komponen lainnya. Masih terdapatnya beberapa spot pada fraksi keempat karena adanya delapan jenis vitamin E, yaitu empat jenis tokoferol (α , β , γ , dan δ) dan empat jenis tokotrienol (α , β , γ , dan δ). Perbedaan tokotrienol mempunyai rantai cincin tidak jenuh yang memiliki tiga rantai rangkap pada ekor isoprenoid farnesil. Setelah terlihat pemisahan yang baik antara β -karoten dengan tokoferol, maka penelitian dilanjutkan dengan optimasi pemurnian tokoferol dari β -karoten menggunakan kolom kromatografi dengan fasa diam silika gel.

Pemilihan kolom didasarkan pada hasil spot yang terlihat di KLT terpisah dengan sempurna dari setiap fraksi. Sedangkan eluen menggunakan petroleum benzena : dietil eter : asam asetat (70:30:0,2). Proses pemurnian menggunakan dua buah sampel, yaitu hasil saponifikasi tanpa ekstraksi dengan metanol (Sampel A) dan yang kedua adalah hasil saponifikasi yang diekstraksi menggunakan metanol (Sampel B). Setelah terkumpulnya 6 fraksi, sampel tanpa ekstraksi dengan metanol (A) hanya menunjukkan spot β -karoten. Sedangkan sampel yang telah diekstraksi dengan metanol (B) menunjukkan bahwa pada fraksi 3-6, senyawa tokoferol sudah mulai terpisah dari β -karoten (Gambar 7). Fraksi 1 diduga masih merupakan eluen sehingga belum terlihat spot setelah visualisasi dengan iod, sementara fraksi 2 sampel B diduga merupakan β -karoten, dan fraksi 3-6 diduga merupakan tokoferol.

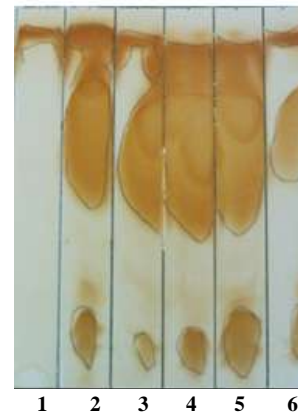
Mikroenkapsulasi vitamin E

Kumpulan fraksi murni vitamin E (tokoferol) dikumpulkan untuk dilakukan mikroenkapsulasi menggunakan gum arab dan kitosan. Gum arab merupakan enkapsulan atau penyalut yang sering digunakan karena mempunyai sifat membentuk emulsi yang baik (Dong *et al.*, 2007; Xia *et al.*, 2012). Penggunaan gum arab pada konsentrasi tinggi akan membentuk emulsi yang memiliki viskositas tinggi. Campuran ini kemudian dijadikan serbuk dengan teknik *spray drying* agar diperoleh produk yang stabil. Metode *spray drying* dipilih karena teknik ini ekonomis dan mudah digunakan (Carolina *et al.*, 2007).



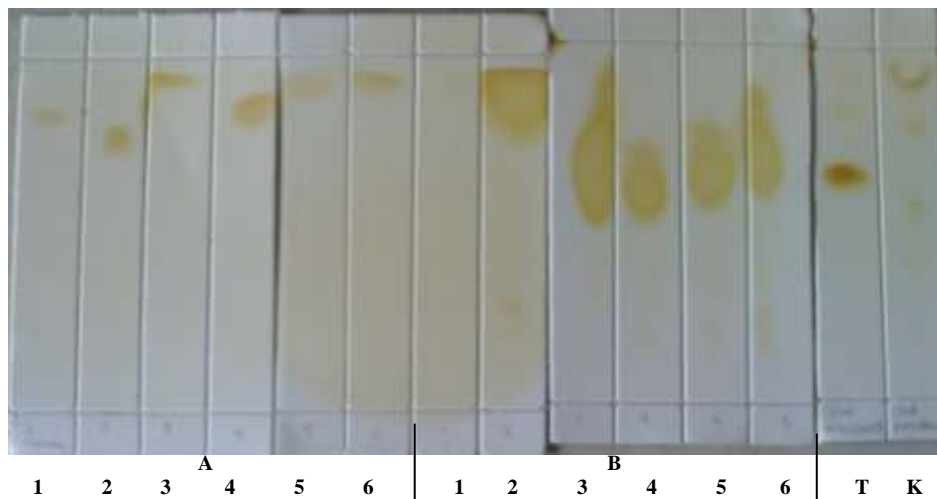
Gambar 5. Visualisasi pemurnian tokoferol hasil fraksinasi kolom kromatografi fasa diam zeolit dan eluen n- heksana : THF : 2-propanol (1000 : 60 : 4). 1) Tokoferol, 2) sebelum fraksinasi; 3) Fraksi 1, 4) Fraksi 2, 5) Fraksi 3 dan 6) Fraksi 4.

Figure 5. Visualization of the purification step using column chromatography with zeolite as stationary phase and n-hexane: THF : 2-propanol (1000: 60: 4) as eluent. 1) Tocopherol, 2) before fractionation; 3) 1st fraction, 4) 2nd fraction, 5) 3rd fraction, and 6) 4th fraction.



Gambar 6. Visualisasi pemurnian tokoferol hasil fraksinasi kolom kromatografi dengan fasa diam zeolit dan eluen petroleum benzen : dietil eter : asam asetat (70 : 30 : 0,2). 1) Tokoferol, 2) sebelum fraksinasi, 3) Fraksi 1, 4) Fraksi 2, 5) Fraksi 3, dan 6) Fraksi 4.

Figure 6. Visualization of the purification step using column chromatography with zeolite as stationary phase and petroleum benzene : diethyl ether: acetic acid (70: 30: 0.2) as eluent. 1) Tocopherol, 2) before fractionation, 3) 1st fraction, 4) 2nd fraction, 5) 3rd fraction, and 6) 4th fraction.



Gambar 7. Visualisasi pemurnian tokoferol hasil fraksinasi kolom kromatografi dengan fasa diam silika gel dan eluen petroleum benzen : dietil eter : asam asetat (70 : 30 : 0,2). A).Tanpa ekstraksi metanol (Fraksi 1-6), B). Dengan ekstraksi metanol (Fraksi 1-6), T). Standar tokoferol dan K) Standar β -karoten.

Figure 7. Visualization of the purification step using column chromatography with silica gel as stationary phase and petroleum benzene: diethyl ether: acetic acid (70: 30: 0.2) as eluent. A). Extraction without methanol (1-6th fractions), B). With methanol extraction (1-6th fractions), T). Tocopherol standards and K) β -carotene standard.

Percobaan awal mikroenkapsulasi dilakukan menggunakan ekstrak kasar vitamin E. Ekstrak kasar vitamin E diperoleh dari saponifikasi CPO kemudian diekstraksi dengan metanol pekat sebanyak satu kali. Kondisi terbaik untuk mikroenkapsulasi adalah vitamin E hasil ekstraksi dengan metanol. Dari empat liter ekstrak kasar vitamin E setelah dikeringkan dengan *spray dryer* diperoleh serbuk mikro kapsulat sebanyak 28,671 g (Tabel 2). Serbuk yang diperoleh berwarna kuning kecoklatan, bertekstur halus, dan tidak lengket. Terlihatnya warna kuning pada serbuk kemungkinan disebabkan sampel masih mengandung beta karoten.

Pemurnian vitamin E meningkatkan rendemen produk mikro kapsul baik yang dikeringkan dengan *spray dryer* maupun *freeze drying* (Tabel 2). Sampel yang tidak melalui proses ekstraksi menggunakan metanol dihasilkan 26 g serbuk mikroenkapsul vitamin E, sedangkan sampel yang melalui proses ekstraksi dihasilkan 51 g serbuk mikroenkapsul. Sampel yang melalui proses ekstraksi menghasilkan lebih banyak serbuk karena kandungan air pada sampel lebih rendah sehingga tidak banyak komponen yang ikut menguap bersama air saat proses pengeringan dengan *spray dryer*. Pembuatan mikro-

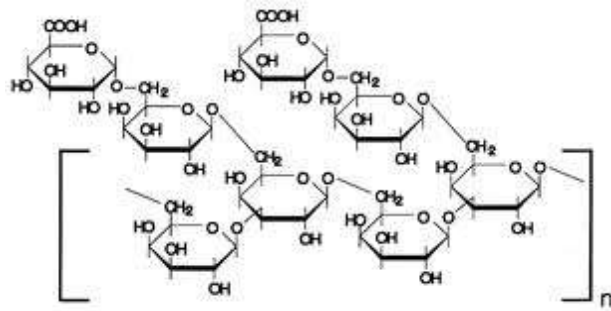
enkapsul dengan pengeringan menggunakan *spray dryer* lebih efisien dan tidak membutuhkan waktu yang lama dibandingkan dengan pengeringan menggunakan *freeze dryer*. Proses *spray drying* dengan jumlah larutan 4 L memerlukan waktu dua jam, sedangkan pada proses *freeze drying* memerlukan waktu 20 jam. Secara umum, gum arab menghasilkan mikro kapsul yang baik yaitu seluruh ekstrak vitamin E dapat disalut dan menghasilkan serbuk yang baik dan tidak lengket.

Proses penyalutan berfungsi untuk menjaga stabilitas dan aktivitas antioksidan vitamin E CPO, sehingga perlu diamati bagaimana kesempurnaan penyalutan dari bahan penyalut yang digunakan untuk menjaga aktivitas bahan aktif Vitamin E. Gum arab merupakan agregat kompleks dari gula dan hemiselulosa. Inti agregat terdiri dari sebuah inti asam arab untuk terhubung kalsium, magnesium, dan kalium bersama dengan gula arabinosa, galaktosa dan ramnosa (Gambar 8). Struktur ini menstabilkan bahan aktif Vitamin E agar tidak mudah teroksidasi. Hasil *Scanning Electron Microscope* (SEM) menunjukkan adanya partikel yang diselubungi oleh bahan penyalut gum arab (Gambar 9).

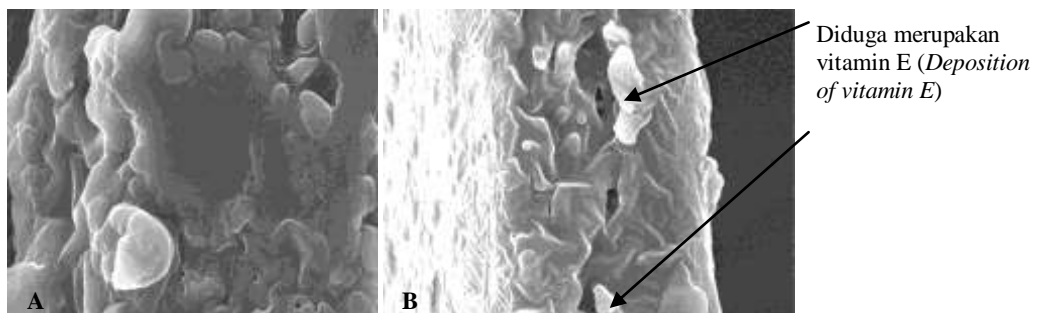
Tabel 2. Rendemen produk mikro kapsul vitamin E hasil ekstraksi dari CPO

Table 2. Yield of microcapsulated of vitamin E extracted from CPO

Bahan penyalut <i>Encapsulated materia</i>	Sumber vitamin E <i>Vitamin E source</i>	Bahan pensuspensi <i>Suspension reagent</i>	Cara pengeringan <i>Method of drying</i>	Produk mikro kapsul <i>Microencapsulated products (g)</i>
Gum arab (72 g) <i>Arabic gum</i>	Vitamin E dari ekstrak kasar <i>Crude extract of vitamin E</i> (30 mL)	Etanol (3 L)	<i>Spray drying</i>	28,67
Gum arab (72 g) <i>Arabic gum</i>	Vitamin E tanpa ekstraksi dengan metanol (<i>Vitamin E</i> <i>without extraction with</i> <i>methanol</i>) (30 mL)	Etanol (3 L)	<i>Spray drying</i>	26,00
Gum arab (72 g) <i>Arabic gum</i>	Vitamin E hasil ekstraksi dengan metanol (<i>Vitamin E</i> <i>after extraction with methanol</i>) (30 mL)	Etanol (3 L)	<i>Spray drying</i>	51,00
Gum arab (72 g) <i>Arabic gum</i>	Vitamin E hasil ekstraksi dengan metanol (<i>Vitamin E</i> <i>after extraction with methanol</i>) (30 mL)	Etanol (3 L)	<i>Freeze drying</i>	54,72
Kitosan (40 g) <i>chitosan</i>	Vitamin E hasil ekstraksi dengan metanol (<i>Vitamin E</i> <i>after extraction with methanol</i>) (40 mL)	Aquades (2 L)	<i>Spray drying</i>	1,80



Gambar 8. Struktur molekul gum arab
Figure 8. Gum Arabic molecule structure



Gambar 9. Visualisasi hasil scanning electron microscope (SEM) mikroenkapsulasi Vitamin E menggunakan gum arab, A) Tampak permukaan atas dan B) Tampak melintang
Figure 9. Visualization results of scanning electron microscope (SEM) from microencapsulated vitamin E use gum arabic, A) appears on the surface and B) Looks transverse

Tabel 3. Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH.
Table 3. Stage of antioxidant activity using DPPH method.

Aktivitas antioksidan Antioxidant activity	Nilai Value IC ₅₀
Sangat Kuat (Very high)	< 50 µg/mL
Kuat (High)	50-100 µg/mL
Sedang (Middle)	101-150 µg/mL
Lemah (Weak)	. 150 µg/mL

Tabel 4. Aktivitas antioksidan vitamin E dalam mikroenkapsul yang disalut dengan bahan penyalut gum Arab.
Table 4. Vitamin E antioxidant activity in microencapsul with gum Arabic as encapsulated material.

Sampel Sample	Aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC ₅₀ DPPH (Antioxidant activity based on IC ₅₀ DPPH values) (ppm)	Kategori antioksidan Antioxidant category
Mikrokapsul dikeringkan dengan <i>spray dryer</i>	132,55	Sedang
Mikrokapsul dikeringkan dengan <i>freeze dryer</i>	144,81	Sedang
Vitamin C	3,31	Tinggi
Vitamin E hasil ekstraksi CPO	< 10	Tinggi
Vitamin E murni p.a (Sigma)	< 10	Tinggi

Kitosan secara umum menghasilkan suspensi yang lebih stabil dibandingkan dengan gum arab dan tampilan serbuknya lebih halus, lembut dan berwarna kuning cerah. Namun, penyalutan menggunakan kitosan menghasilkan rendemen serbuk jauh lebih rendah yaitu 1,8 g. Hal ini diduga karena penguapan kitosan selama pengeringan sehingga perlu penambahan bahan pengisi (*filler*) dan perlu dilakukan optimasi suhu pengeringan.

Aktivitas antioksidan

Nilai IC₅₀ dari hasil mikroenkapsulasi vitamin E yang telah dikeringkan dengan metode *spray drying* lebih baik (132,55 ppm) dibandingkan dengan metode *freeze drying* (144,81 ppm) (Tabel 2). Metode *spray drying* terbukti tidak merusak aktivitas vitamin E tersebut karena kemungkinan vitamin E CPO tidak mudah rusak akibat suhu tinggi (Siahaan & Lamria, 2006). Tingkat kekuatan antioksidan senyawa uji menggunakan metode DPPH dapat digolongkan dalam beberapa tingkatan, dan kedua aktivitas vitamin E hasil metode pengeringan yang berbeda ini dikategorikan beraktivitas sedang (Tabel 3).

IC₅₀-DPPH vitamin E hasil ekstraksi CPO mempunyai aktivitas antioksidan yang sama dengan vitamin E p.a dari Sigma (< 10 ppm). Sampel hasil mikroenkapsulasi dari vitamin E masih lebih rendah dibandingkan dengan vitamin E hasil ekstraksi maupun vitamin C murni (Tabel 4). Lebih tingginya nilai IC₅₀ produk mikrokapsul vitamin E hasil pengeringan dengan *spray dryer* dibandingkan dengan *freeze dryer* kemungkinan karena vitamin E yang disalutkan memiliki konsentrasi yang tidak identik sama yang kemungkinan disebabkan variasi komposisi vitamin E dalam CPO. Turunnya aktivitas antioksidan tersebut kecil kemungkinan disebabkan oleh faktor pengeringan karena metode *freeze drying* justru menjaga stabilitas aktivitas bahan aktif.

Kesimpulan

Teknologi isolasi vitamin E dari CPO dapat dilakukan dengan tahapan sebagai berikut :

- Saponifikasi menggunakan NaOH, etanol dan BHT dan kemudian ekstraksi menggunakan metanol.
- Pemurnian dilakukan menggunakan kromatografi kolom dengan fasa diam silika gel dan eluen petroleum benzene : dietil eter : asam asetat (70 : 30 : 0,2).
- Proses mikroenkapsulasi vitamin E dapat dilakukan dengan bahan penyalut gum arab dan dikeringkan dengan *spray dryer* dan diperoleh produk dengan kadar vitamin E 132 ppm dan aktivitas antioksidan tergolong kategori sedang.

Daftar Pustaka

- Abidi SL (2003). Tocol-derived minor constituents in selected plant seed oils. *J Am Oil Chem Soc* 80, 327-333.
- Ahza & Slamet (1997). Mikroenkapsulasi campuran ekstrak kulit dan buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) serta aplikasinya pada teh celup. *Bul Teknol dan Indust Pangan* 8 (2), 7-13.
- Carolina BC, S Carolina, MC Zamora & C Jorge (2007). Glass transition temperatures and some physical and sensory changes in stored pray-dried encapsulated flavours. *LWT – Food Sci & Tech* 40(10), 1792–1797.
- Colombo ML (2010). An Update on vitamin E, tocopherol and tocotrienol-perspectives. *Molecules* 15, 2103-2113.
- Dong ZJ, A Toure, CS Jia, XM Zhang & SY Xu (2007). Effect of processing parameters on the formation of spherical multinuclear microcapsules encapsulating peppermint oil by coacervation. *J Microencapsulation* 24, 634-646.
- Gardjito M, A Murdiati & Nur Aini (2006). Mikroenkapsulasi β-karoten buah labu kuning dengan enkapsulan whey dan karbohidrat. *J Teknol Pertanian* 2(1), 13-18.
- ESA Analytical (2002). *Determination of Tocopherols and Tocotrienols*. Application Note, ESA, Inc, Chelmsford, USA.
- Halodin M, M Skeeget, Z Knev & D Beruna (2001). High pressure extraction of vitamin E rich oil from *Silyburn macianum*. *Food Chem* 74(3), 355-364.
- Ng MH, YM Choo, AN Ma, CH Chuah & HM Ali (2004). Separation of vitamin E (tocopherol, tocotrienol and tocomonoenol) in palm oil. *Lipids* 39, 1031-1035.
- Siahaan D & M Lamri (2006). Kajian produksi terpadu karoten, vitamin E, dan biodiesel dari minyak sawit. *Warta PKKS* 14 (3), 11-16.
- Patel V, C Rink, S Khanna & CK Sen (2011). Tocotrienol : The lesser known form of natural vitamin E. *Indian J Experiment Biol* 49, 732-738.
- Xiao JX, Y Hai-yan & Y Jian (2011). Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. *Food Chem* 125, 1267–1272.
- Zuidam NJ & E Shimoni (2010). Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them. In: Zuidam & Shimoni (Eds.) *Encapsulation Technologies for Active Food and Ingredients Food Processing*. Springer Science. 391p.