

KARAKTERISTIK NANOEMULSI MINYAK SAWIT MERAH YANG DIPERKAYA BETA KAROTEN

Characteristics of Red Palm Oil Nanoemulsions Enriched with Beta Carotene

SHANNORA YULIASARI¹⁾, DEDI FARDIAZ²⁾, NURI ANDARWULAN²⁾, dan SRI YULIANI³⁾

¹⁾ Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Bengkulu
Jalan Irian Km 6,5, Bengkulu 38119

²⁾ Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian
Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga

³⁾ Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian
Jalan Tentara Pelajar No. 12, Bogor 16111

email: rara_shy@yahoo.com

(Diterima: 12-2-2014 ; Direvisi: 2-7-2014 ; Disetujui: 25-7-2014)

ABSTRAK

Minyak sawit merah (*Red palm oil*/RPO) dan β -karoten tidak larut dalam air sehingga sulit diaplikasikan ke dalam produk pangan. Salah satu pendekatan untuk meningkatkan kelarutan RPO dan β -karoten adalah emulsifikasi. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan nanoemulsi RPO diperkaya β -karoten yang stabil. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium SEAFASST CENTER IPB dari Januari–September 2013. Pada penelitian tahap pertama, nanoemulsi disiapkan melalui tahap-tahap: pengayaan RPO dengan β -karoten dan emulsifikasi RPO yang telah diperkaya β -karoten menggunakan HPH (*High Pressure Homogenizer*) pada tekanan 34,5 MPa dengan 10 siklus. Rasio RPO dan air dalam emulsi adalah 5 : 95; 7,5 : 92,5; dan 10 : 90 (b/b), dan persentase Tween 80 sebagai pengemulsi adalah 2,5; 5,0; 7,5; dan 10% (b/b) dari total emulsi. Pada tahap kedua, nanoemulsi disiapkan dengan persentase RPO: 2, 4, dan 6% (b/b) dan pengemulsi 1,5; 3,0; dan 4,5% (b/b) dari total emulsi. Hasil penelitian tahap pertama menunjukkan nanoemulsi yang dibuat dengan rasio RPO : air = 5 : 95 dan 7,5 : 92,5 serta pengemulsi 5% (b/b) menghasilkan emulsi dengan ukuran droplet 115,1 sampai 145,2 nm dan stabil. Nanoemulsi yang dihasilkan dari penelitian tahap kedua memiliki ukuran droplet 94,9 sampai 125,5 nm, dan kadar β -karoten antara 47,6 sampai 130,9 mg/l. Ukuran droplet nanoemulsi yang kurang dari 125 nm dapat dihasilkan dengan formula rasio RPO dan pengemulsi kurang dari 2,0.

Kata kunci: minyak sawit merah, β -karoten, nanoemulsi, *homogenizer*

ABSTRACT

Red palm oil (RPO) and β -carotene are insoluble in water. It makes them difficult to be applied in food products. One of the approaches that can be used to improve RPO and β -carotene solubility is emulsification. This research is aimed to produce stable RPO nanoemulsion enriched with β -carotene. The research was conducted in the SEAFASST CENTER Laboratory, Bogor Agriculture University from January to September 2013. In the first stage research, nanoemulsion was prepared through the following steps, i.e. enrichment of RPO with β -carotene and emulsification using a high pressure homogenizer at a pressure of 34.5 MPa in 10 cycles. The ratio of RPO and water in the mixture were 5 : 95; 7.5 : 92.5; and 10 : 90 (w/w), and Tween 80 percentage as emulsifier was 2.5; 5.0; 7.5; and 10% (w/w) of the total emulsions. In the second stage, nanoemulsions were prepared on various RPO percentage of 2, 4, and 6% (w/w) and emulsifier of 1.5; 3.0; and 4.5% (w/w) of the total emulsions. The results from the first stage showed that the nanoemulsions produced with the ratio of RPO and water were 5 : 95 and 7.5 : 92.5, and emulsifier of 5% (b/b) had a droplet size from 115.1 to 145.2 nm and stable. Nanoemulsions were

resulting from the second stage had droplet size from 94.9 to 125.5 nm, and β -carotene content were 47.6 to 130.9 mg/l. Droplet size of nanoemulsions is less than 125 nm. It can be produced with RPO and emulsifier ratio less than 2.0.

Key words: red palm oil, β -carotene, nanoemulsion, homogenizer

PENDAHULUAN

Salah satu produk turunan minyak sawit mentah (*crude palm oil*/CPO) adalah minyak sawit merah (*red palm oil*/RPO) yang mengandung total karoten 550 ppm, di antaranya adalah β -karoten sebesar 375 ppm (MANORAMA *et al.*, 1996). Karotenoid yang terdapat dalam RPO terdiri dari β -karoten 54,4; α -karoten 36,2; γ -karoten 3,3; likopen 3,8; dan xantofil 2,2% (SAMBANTHAMURTI *et al.*, 2000). Dalam proses pengolahan CPO menjadi minyak goreng, kandungan karotenoid dalam CPO hilang karena proses *bleaching* untuk mendapatkan minyak berwarna kuning keemasan. Selain kandungan β -karoten, RPO juga mengandung vitamin E sebesar 559-1000 ppm yang terdapat dalam bentuk tokoferol 18-22 dan tokotrienol 78-82% (EDEM, 2002).

Minyak sawit merah berpotensi digunakan sebagai ingredien pangan fungsional karena kandungan β -karoten dan komponen fungsional lainnya. β -karoten merupakan karotenoid dengan aktivitas provitamin A paling tinggi karena setiap molekul β -karoten dapat menghasilkan dua molekul retinal, yang kemudian direduksi menjadi retinol (vitamin A) (FERNANDEZ-GARCIA *et al.*, 2012). Hasil studi yang dilakukan ZAGRE *et al.* (2003) yang melibatkan 210 pasangan ibu dan balita berumur 1-3 tahun menunjukkan konsumsi RPO selama 2 tahun dapat memperbaiki kadar retinol serum. Konsumsi RPO tidak hanya efektif menurunkan defisiensi vitamin A, tetapi juga sebagai antioksidan karena mengandung vitamin E. MAYAMOL *et al.* (2007) melaporkan bahwa RPO dapat digunakan dalam

berbagai bentuk untuk memberikan pro-vitamin A pada anak-anak beresiko (malnutrisi), dengan tujuan untuk melindungi anak kekurangan gizi terhadap kekurangan vitamin A dan risiko buta. RPO yang diberikan dalam makanan ibu menyusui meningkatkan kadar total karoten dalam air susu ibu (ASI) secara signifikan, serta meningkatkan kadar retinol dalam plasma anak. Karoten dalam RPO juga diketahui memiliki beberapa fungsi fisiologis lain, yaitu sebagai antioksidan, memberikan fungsi kekebalan tubuh, dan aktivitas antikanker (SUNDRAM, 2005). Namun, karakteristik β -karoten dan RPO yang tidak dapat larut dalam air menyebabkan sulit diaplikasikan ke dalam produk pangan. Salah satu alternatif untuk meningkatkan kelarutan β -karoten dan RPO adalah dengan memformulasikan β -karoten dalam RPO menjadi suatu emulsi minyak dalam air (YUAN *et al.*, 2008; MAO *et al.*, 2009).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa emulsi minyak dalam air dengan ukuran droplet berskala nanometer yang kemudian dikenal dengan nanoemulsi minyak dalam air mampu mempertahankan kestabilan β -karoten terhadap agregasi, pemisahan akibat gravitasi, oksidasi, serta meningkatkan kelarutan, bioaksesibilitas, dan bioavailabilitas β -karoten (TAN dan NAKAJIMA, 2005; YUAN *et al.*, 2008; QIAN *et al.*, 2012). Peningkatan stabilitas yang baik terhadap agregasi droplet, pemisahan fase, dan kelarutan pada nanoemulsi disebabkan karena gaya tarik menarik yang bekerja antara droplet berkurang dengan semakin kecil ukuran partikel (LEE dan MCCLEMENTS, 2010). Dengan ukuran droplet yang semakin kecil, nanoemulsi mempunyai luas permukaan yang lebih besar sehingga kelarutan dan penyerapan meningkat (BHALODIA dan SHELAT, 2010; QIAN *et al.*, 2012). Salah satu metode yang dapat digunakan untuk penyiapan nanoemulsi adalah metode homogenisasi energi tinggi dengan *High Pressure Homogenizer* (HPH).

Beberapa peneliti sebelumnya melaporkan bahwa nanoemulsi minyak dalam air dengan β -karoten murni yang dilarutkan ke dalam minyak dapat menghasilkan nanoemulsi dengan ukuran droplet emulsi < 100 nm, namun dengan jumlah minyak maksimum hanya 10% (v/v) (YUAN *et al.*, 2008; TRENTIN *et al.*, 2011; XU *et al.*, 2012; QIAN *et al.*, 2012; ZIANI *et al.*, 2012). Dengan demikian, jika nanoemulsi RPO yang dibuat hanya mengandalkan kandungan β -karoten alami yang terdapat dalam RPO, maka kandungan β -karoten dalam produk nanoemulsi akan menjadi sangat rendah. FDA (2009) menyatakan bahwa suatu pangan dapat diklaim sebagai sumber karoten yang baik apabila memenuhi 10% atau lebih angka kecukupan gizi (AKG) vitamin A per takaran saji. AKG vitamin A rata-rata yang dianjurkan untuk masyarakat Indonesia ditetapkan 600 RE (*Retinol Equivalent*) atau setara dengan 3600 μ g β -karoten sesuai dengan SK Menteri Kesehatan RI No. 1593 Tahun 2005. Dengan demikian, kadar β -karoten minimal yang harus dicapai dalam suatu produk adalah $10\% \times 3600 = 360$ μ g β -karoten per takaran saji. Oleh karena itu, untuk meningkatkan daya guna produk

nanoemulsi RPO yang ingin diperoleh pada penelitian ini, maka RPO diperkaya dengan β -karoten murni. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan formula nanoemulsi RPO diperkaya β -karoten yang stabil.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang Digunakan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah RPO yang dimurnikan dari CPO produksi PT Salim Ivomas Pratama Jakarta. Pemurnian dilakukan di *Pilot plant* SEAFASST CENTER, Institut Pertanian Bogor. Karakteristik RPO hasil pemurnian adalah kadar asam lemak bebas 0,13%; bilangan peroksida 0,81 meq peroksida/kg minyak; total karoten 556,93 mg/l; kadar β -karoten 424,66 mg/l; dan kadar air 0,07%. Campuran bahan yang digunakan dalam pembuatan emulsi adalah β -karoten murni 97% (NC 22040 Sigma, Aldrich), pengemulsi Tween 80 (*polyoxyethylene sorbitan monooleate*) (Merck Schuchardt, Jerman), serta larutan bufer fosfat 0,01 M pH 7,0 yang dibuat dari NaH_2PO_4 dan Na_2HPO_4 .

Pengayaan RPO dengan β -karoten

RPO dipanaskan menggunakan *hot plate* yang distirrer. Pada saat suhu RPO mencapai 140°C, β -karoten sebanyak 0,4% (b/b) didispersikan ke dalam RPO, kemudian divorteks selama 2 menit. RPO yang telah mengandung β -karoten dialiri dengan gas nitrogen dan kemudian ditutup rapat. Selanjutnya, RPO sebanyak 1.170 g disentrifus pada kecepatan 1.750 rpm selama 10 menit pada suhu ruang untuk mengendapkan β -karoten yang tidak larut (AHMED *et al.*, 2012; QIAN *et al.*, 2012). Selanjutnya, RPO dikemas dalam botol gelap berisi gas nitrogen.

Seleksi Tahap Awal Formula Nanoemulsi

Penyiapan nanoemulsi

Nanoemulsi dibuat dengan mencampurkan RPO yang diperkaya β -karoten sebagai fase minyak, larutan bufer fosfat 0,01 M pH 7,0 sebagai fase air, dan pengemulsi Tween 80. Selanjutnya, campuran bahan nanoemulsi dihomogenisasi menggunakan *ultraturrax homogenizer* pada kecepatan 11.000 rpm selama 1 menit untuk membuat emulsi kasar, kemudian dilanjutkan homogenisasi dengan HPH (Model Mini deBee, BEE International, USA) pada tekanan 34,5 MPa dengan 10 siklus pengumpanan. Nanoemulsi yang diperoleh dikemas dalam botol gelap berisi gas nitrogen untuk dianalisis. Proses nanoemulsifikasi RPO yang diperkaya β -karoten didesain dengan rancangan acak lengkap faktorial dua faktor, yaitu tiga taraf rasio RPO : air, yaitu 5 : 95; 7,5 : 92,5; dan 10 : 90 (b/b), dan empat taraf konsentrasi pengemulsi, yaitu 2,5; 5,0; 7,5; dan 10% (b/b), serta dilakukan dua pengulangan. Komposisi jumlah RPO, air, dan pengemulsi pada setiap perlakuan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi jumlah RPO, air, dan pengemulsi pada setiap formula nanoemulsi
 Table 1. Composition of RPO, water, and emulsifier in every nanoemulsions formula

Rasio RPO dan air <i>Ratio of RPO and water</i>	Konsentrasi <i>Concentrations</i>		
	RPO (% b/b) <i>RPO (% w/w)</i>	Pengemulsi (% b/b) <i>Emulsifier (% w/w)</i>	Air (% b/b) <i>Water (% w/w)</i>
5 : 95	4,9	2,5	92,6
5 : 95	4,8	5,0	90,3
5 : 95	4,6	7,5	87,9
5 : 95	4,5	10,0	85,5
7,5 : 92,5	7,3	2,5	90,2
7,5 : 92,5	7,1	5,0	87,9
7,5 : 92,5	6,9	7,5	85,6
7,5 : 92,5	6,8	10,0	83,2
10 : 90	9,7	2,5	87,8
10 : 90	9,5	5,0	85,5
10 : 90	9,3	7,5	83,2
10 : 90	9,0	10,0	81,0

Seleksi formula

Pemilihan formula nanoemulsi ditentukan berdasarkan ukuran droplet dan stabilitas nanoemulsi yang dikehendaki. Ukuran droplet ditentukan dengan *Particle Size Analyzer* (PSA) (Model Zetasizer Nano ZS series Malvern Instruments, UK). Data yang diperoleh meliputi ukuran droplet, distribusi ukuran, dan indeks polidispersitas (PdI) nanoemulsi. Ukuran droplet dinyatakan dengan rata-rata diameter (*Z-average*) berdasarkan *number distribution*. Distribusi ukuran droplet nanoemulsi dinyatakan sebagai persentase jumlah droplet pada setiap puncak kurva distribusi. Nilai PdI menunjukkan keragaman sampel. Nilai PdI yang rendah ($< 0,3$) menunjukkan bahwa sampel adalah monodispersi (YUAN *et al.*, 2008).

Stabilitas emulsi terhadap pemisahan fase ditentukan dengan metode sentrifus (BERNARDI *et al.*, 2011). Sebanyak 10 ml sampel nanoemulsi dimasukkan ke dalam tabung sentrifus 15 ml, dan disentrifus pada kecepatan 1.000 rpm (70 g), 2.500 rpm (440 g), dan 3.500 rpm (863 g), selama 15 menit pada suhu 25°C. Pengamatan kondisi sampel dilakukan secara visual setelah sentrifus. Sampel nanoemulsi yang stabil setelah sentrifus diberi skor 1, dan sampel nanoemulsi yang tidak stabil atau emulsinya pecah diberi skor 0. Selanjutnya, skor tersebut dijumlahkan untuk setiap perlakuan dan dinyatakan sebagai indeks stabilitas. Indeks stabilitas dengan nilai 1 = nanoemulsi tidak stabil setelah sentrifus 1.000 rpm, 2 = nanoemulsi tidak stabil setelah sentrifus 2.500 rpm, 3 = nanoemulsions tidak stabil setelah sentrifus 3.000 rpm.

Seleksi Lanjut Formula Nanoemulsi RPO Diperkaya β -Karoten

Penyiapan nanoemulsi

Formulasi lanjut dilakukan berdasarkan hasil yang diperoleh pada tahap formulasi pendahuluan. Nanoemulsi

dibuat dengan kombinasi jumlah RPO dan pengemulsi : RPO 2, 4, dan 6% (b/b) dan pengemulsi 1,5; 3,0; dan 4,5% (b/b) dari total emulsi. Campuran bahan nanoemulsi dihomogenisasi menggunakan *ultraturax homogenizer* pada kecepatan 11.000 rpm selama 1 menit untuk membuat emulsi kasar, kemudian dilanjutkan homogenisasi dengan HPH (Model GEA Niro Soavi, Italia) pada tekanan 50 MPa dengan 7 siklus. Nanoemulsi yang diperoleh dikemas dalam botol gelap berisi gas nitrogen untuk dianalisis.

Karakterisasi nanoemulsi

Formula nanoemulsi terbaik diseleksi berdasarkan karakteristik nanoemulsi. Karakteristik nanoemulsi yang diamati adalah ukuran droplet, PdI, potensial zeta, viskositas, tegangan permukaan, dan kadar β -karoten nanoemulsi. Ukuran droplet, PdI, potensial zeta ditentukan dengan PSA Zetasizer (model Nano ZS series Malvern Instruments, UK). Viskositas larutan nanoemulsi diukur menggunakan viskometer rotasi (Model Haake Rotoviscometer RV 20, RT Instruments Inc. USA) pada kondisi suhu 25°C selama 10 menit, *shear rate* 50-500 l/detik, dan jenis spindle NV. Viskositas diukur pada minggu ke-0 dan 15 setelah penyimpanan pada suhu 10°C. Tegangan permukaan nanoemulsi ditentukan dengan tensiometer *Du Nuoy*.

Kadar β -karoten dalam sampel ditentukan dengan metode AOAC Official Method 2001.13 (AOAC, 2005). Sampel disiapkan dengan saponifikasi menggunakan 10 ml ethanol absolut dan 2,5 ml KOH 50% dalam aquades (b/v), kemudian dipanaskan dalam *waterbath* 80°C selama 1 jam. Campuran didinginkan dan ditambah 2,5 ml asam asetat glasial. Selanjutnya, campuran dipindahkan ke dalam labu ukur 25 ml dan volume ditepatkan dengan ethanol : tetrahydrofuran 1 : 1 (v/v). Kemudian, sampel disaring dengan *syring filter* Whatman ukuran pori 0,45 μ m. Kadar β -karoten ditentukan dengan *High Performance Liquid*

Chromatograph (HPLC) (Shimadzu, Jepang) secara isokratik menggunakan kolom C18 atau ODS (15 cm × 4,6 cm i.d., 5 µm) dan detektor *Ultra Violet Visible* (UV Vis) pada 450 nm. Elusi dilakukan dengan laju alir 1,0 ml/menit pada suhu ruang, menggunakan fase gerak methyl dichloride : methanol : asetonitril = 2 : 1 : 3 (2 : 1 : 3) yang telah disonikasi selama 30 menit.

Analisis Statistik

Seleksi formula berdasarkan ukuran droplet dilakukan dengan uji statistik analisis sidik ragam (ANOVA) dan uji lanjut Duncan pada tingkat kepercayaan 95% menggunakan *software* SPSS 16.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Seleksi Tahap Awal Formulasi

Seleksi formula nanoemulsi berdasarkan ukuran droplet, distribusi ukuran partikel, indeks polidisersitas, dan stabilitas. Secara keseluruhan formula nanoemulsi

dapat menghasilkan nanoemulsi dengan ukuran droplet antara 115,1 sampai 254,1 nm. Tabel 2 menunjukkan bahwa rasio RPO dan air serta konsentrasi pengemulsi berpengaruh signifikan terhadap ukuran droplet emulsi. Nanoemulsi dengan rasio RPO : air sebesar 5 : 95 dan 7,5 : 92,5 (b/b) dengan konsentrasi pengemulsi 2,5 dan 5,0% (b/b) memiliki ukuran droplet yang tidak berbeda nyata. Peningkatan konsentrasi pengemulsi 7,5 dan 10% (b/b) melebihi jumlah minyak menyebabkan peningkatan ukuran droplet yang signifikan. Peningkatan ukuran droplet yang signifikan terjadi pada formula nanoemulsi dengan rasio RPO : air sebesar 5 : 95; 7,5 : 92,5; dan 10 : 90 (b/b) pada konsentrasi pengemulsi 10% (b/b). Kelebihan pengemulsi dalam sistem nanoemulsi justru tidak dapat menurunkan ukuran droplet menjadi lebih kecil lagi. Hasil ini sejalan dengan penelitian YUAN *et al.* (2008) yang meneliti nanoemulsi β-karoten dalam minyak *medium chain triglyceride* (MCT) dengan pengemulsi Tween 80. Dalam penelitian tersebut, proses nanoemulsifikasi dengan HPH pada tekanan 100 MPa sebanyak tiga siklus hanya efektif menurunkan ukuran droplet nanoemulsi secara signifikan 165 nm pada konsentrasi pengemulsi maksimum 8%.

Tabel 2. Ukuran droplet dan nilai indeks polidisersitas nanoemulsi
 Table 2. Droplet size and polydispersity index values of nanoemulsions

Rasio RPO dan air <i>Ratio of RPO and water</i>	Konsentrasi pengemulsi (% <i>, b/b</i>) <i>Concentration of emulsifiers</i> (% <i>, w/w</i>)	Ukuran droplet (nm) <i>Droplet size (nm)</i>	Indeks polidisersitas <i>Polydispersity index</i>
5 : 95	2,5	126,5 ± 2,89a	0,271 ± 0,01
5 : 95	5,0	115,1 ± 2,95a	0,251 ± 0,03
5 : 95	7,5	155,6 ± 17,91b	0,463 ± 0,06
5 : 95	10,0	254,1 ± 12,08c	0,353 ± 0,06
7,5 : 92,5	2,5	148,3 ± 1,13a	0,241 ± 0,01
7,5 : 92,5	5,0	145,2 ± 3,33a	0,282 ± 0,02
7,5 : 92,5	7,5	170,5 ± 2,64b	0,452 ± 0,03
7,5 : 92,5	10,0	217,2 ± 4,88c	0,412 ± 0,08
10 : 90	2,5	172,3 ± 2,31b	0,262 ± 0,01
10 : 90	5,0	168,3 ± 5,07b	0,273 ± 0,01
10 : 90	7,5	185,0 ± 2,13c	0,305 ± 0,03
10 : 90	10,0	200,7 ± 3,77c	0,364 ± 0,04

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh nyata dari interaksi antar perlakuan pada taraf 5% uji Duncan. Nilai yang ditampilkan dalam tabel adalah nilai rata-rata dari tiga kali pengukuran dari dua ulangan.

Note: Numbers followed by different letters in each column indicate multiple significant effect of the interaction between treatments at 5% Duncan Test. Each value in the table represents the mean of three measurements from two replications.

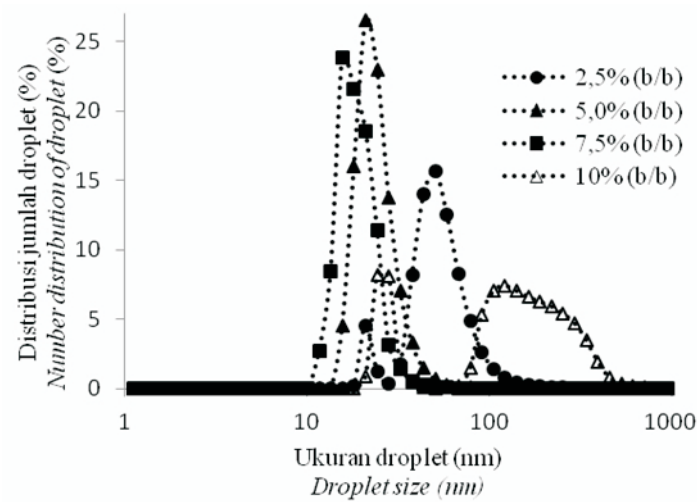
Peningkatan rasio RPO dan air yang digunakan dalam penyiapan nanoemulsi juga menyebabkan peningkatan ukuran droplet yang signifikan. Jumlah minyak yang semakin besar menyebabkan viskositas semakin tinggi sehingga efisiensi pencampuran menjadi lebih rendah dan ukuran droplet nanoemulsi menjadi lebih besar (TAN dan NAKAJIMA, 2005). Pada konsentrasi pengemulsi yang sama, rasio RPO dan air yang semakin kecil menyebabkan jumlah minyak yang harus dilindungi oleh pengemulsi juga semakin sedikit. Sebaliknya, jika jumlah minyak semakin

banyak, luas permukaan minyak yang harus dilindungi oleh pengemulsi juga semakin besar. Akibatnya, kemampuan pengemulsi untuk menstabilkan pembentukan droplet menjadi terbatas, dan droplet minyak cenderung untuk mengalami koalesen sehingga droplet emulsi yang terbentuk berukuran relatif lebih besar dibandingkan nanoemulsi dengan rasio minyak lebih kecil.

Berdasarkan kurva distribusi ukuran droplet, formula nanoemulsi pada rasio RPO : air 5 : 95 (b/b) dan konsentrasi pengemulsi 5,0% (b/b) memiliki kurva

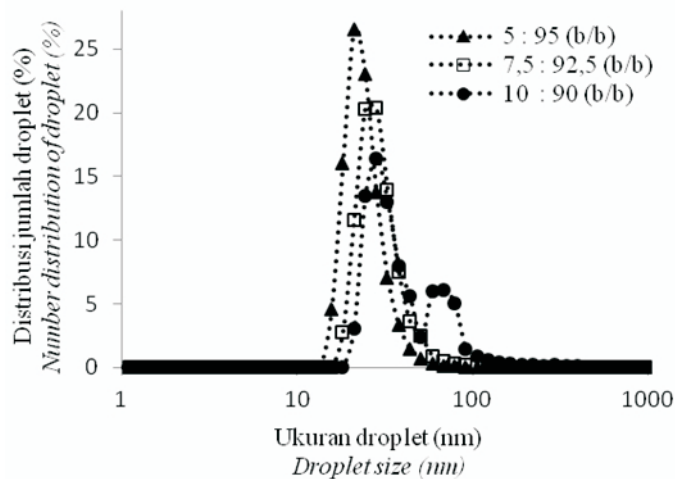
distribusi paling sempit dan persentase droplet paling tinggi dibandingkan konsentrasi pengemulsi lainnya pada rasio minyak dan air yang sama (Gambar 1). Hasil ini juga didukung oleh nilai PDI yang rendah sebesar 0,251 (Tabel 2). Pada konsentrasi pengemulsi yang sama 5,0% (b/b),

formula nanoemulsi dengan rasio RPO : air 5 : 95 (b/b) juga memiliki kurva distribusi ukuran droplet paling sempit dan persentase droplet paling tinggi, dibandingkan dengan rasio RPO : air lainnya (Gambar 2)



Gambar 1. Hubungan antara ukuran droplet dan distribusi jumlah droplet nanoemulsi yang disiapkan pada konsentrasi pengemulsi berbeda 2,5; 5,0; 7,5; dan 10% (b/b) dengan rasio RPO dan air 5 : 95 (b/b)

Figure 1. Relationship between droplet size and number distribution of nanoemulsions droplet were prepared with different concentration of emulsifiers 2.5; 5.0; 7.5; dan 10% (b/b) and ratio of RPO and water of 5 : 95

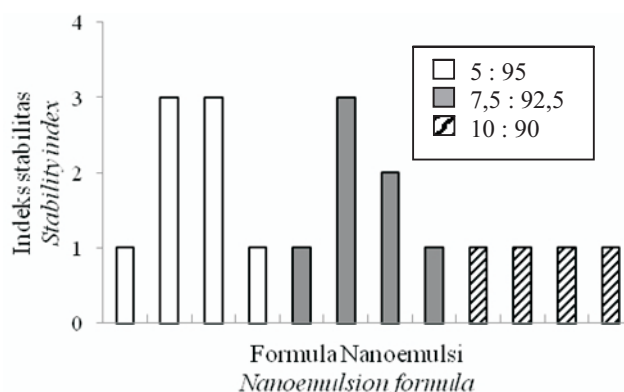


Gambar 2. Hubungan antara ukuran droplet dan distribusi jumlah droplet nanoemulsi yang disiapkan pada rasio RPO dan air berbeda 5 : 95; 7,5 : 92,5; 10 : 90 (b/b) dan konsentrasi pengemulsi yang sama 5,0% (b/b)

Figure 2. Relationship between droplet size and number distribution of nanoemulsions droplet were prepared with different ratio of RPO and water of 5 : 95; 7.5 : 92.5; 10 : 90 (b/b) and the same emulsifier concentration of 5.0% (b/b)

Berdasarkan hasil pengukuran stabilitas nanoemulsi diketahui bahwa nanoemulsi yang masih stabil setelah perlakuan sentrifus pada kecepatan 1.000, 2.500, dan 3.500 rpm hanya nanoemulsi dengan rasio RPO dan air 5 : 95 (b/b) dan pengemulsi 2,5 dan 5,0% (b/b), serta rasio RPO dan air 7,5 : 92,5 (b/b) dan pengemulsi 5,0% (b/b) (Gambar 3). Nanoemulsi dengan rasio RPO dan air 7,5 : 92,5 (b/b)

dan pengemulsi 7,0% (b/b) hanya stabil setelah perlakuan sentrifus pada kecepatan 2.500 rpm. Sementara itu, nanoemulsi lainnya hanya stabil setelah perlakuan sentrifus pada kecepatan 1.000 rpm. Mekanisme ketidakstabilan emulsi yang terjadi adalah *creaming* atau terpisahnya minyak dan air.



Gambar 3. Stabilitas nanoemulsi setelah sentrifus pada kecepatan 1.000, 2.500, dan 3.000 rpm
 Figure 3. Nanoemulsions stability after centrifuged at 1,000; 2,500; and 3,000 rpm

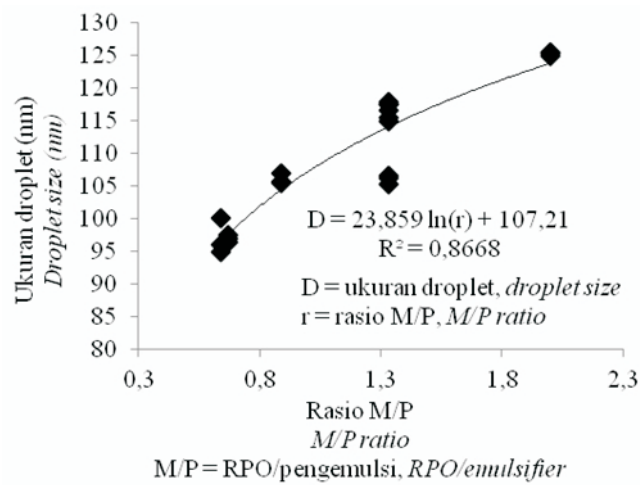
Tahap seleksi formula nanoemulsi menunjukkan ada dua formula yang berukuran droplet mendekati 100 nm (Tabel 2) dan stabil (Gambar 3), yaitu nanoemulsi dengan rasio RPO dan air 5 : 95 dan 7,5 : 92,5 (b/b) dengan pengemulsi 5,0% (b/b). Hasil ini menunjukkan bahwa jumlah RPO yang dapat diformulasikan menjadi nanoemulsi terdapat pada rasio RPO dan air 5 : 95 dan 7,5 : 92,5 dengan konsentrasi pengemulsi sebesar 5,0% (b/b).

Seleksi Lanjut Formula dan Karakterisasi Nanoemulsi

Ukuran droplet dan indeks polidispersitas nanoemulsi

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ukuran droplet nanoemulsi dipengaruhi oleh rasio jumlah RPO dan pengemulsi (M/P). Semakin besar rasio M/P menyebabkan ukuran droplet nanoemulsi semakin besar. Pada kisaran rasio yang digunakan, ukuran droplet nanoemulsi adalah 94,9 sampai 125,5 nm (Gambar 4). Formula terpilih yang dapat menghasilkan nanoemulsi yang stabil adalah rasio

M/P berkisar 1,33 sampai 2,0 dengan ukuran droplet berkisar 105 nm sampai 125 nm. Semakin besar rasio M/P (jumlah RPO semakin banyak) menyebabkan viskositas nanoemulsi semakin tinggi sehingga efisiensi pencampuran menjadi lebih rendah dan droplet nanoemulsi menjadi lebih besar (TAN dan NAKAJIMA, 2005). Karena luas permukaan minyak yang harus dilindungi oleh pengemulsi semakin besar, maka kemampuan pengemulsi untuk menstabilkan droplet minyak menjadi terbatas dan droplet cenderung mengalami koalesens sehingga droplet nanoemulsi yang terbentuk semakin besar (JAFARI *et al.*, 2008). Dari formula nanoemulsi yang diuji terdapat satu formula yang memiliki nilai PDI lebih dari 0,3. Sementara itu, formula yang lainnya mempunyai nilai PDI kurang dari 0,3. Hal ini menunjukkan nanoemulsi yang dihasilkan memiliki rentang distribusi ukuran yang sempit atau relatif homogen (YUAN *et al.*, 2008).



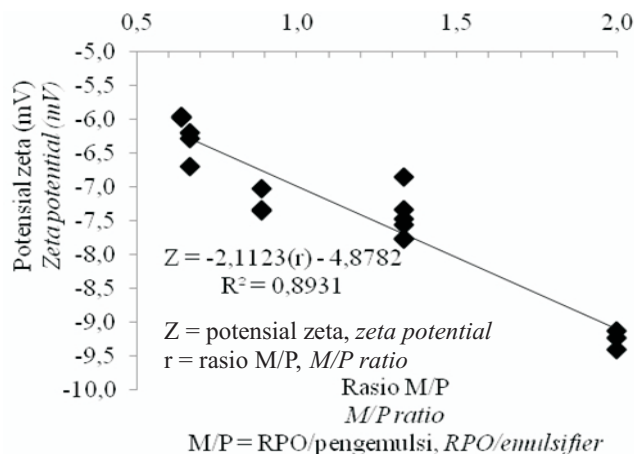
Gambar 4. Hubungan antara rasio M/P dengan ukuran droplet nanoemulsi yang dihomogenisasi pada tekanan 50 MPa dan 7 siklus

Figure 4. Relationship between M/P ratio and nanoemulsions droplet size were homogenized at pressure of 50 MPa and 7 cycles

Potensial Zeta

Nilai potensial zeta digunakan untuk mengkaraktisasi muatan permukaan suatu sistem emulsi dan memprediksi kestabilan suatu sistem emulsi. Hasil analisis menunjukkan potensial zeta berkisar antara -5,9 sampai -12,8 mV. Semakin tinggi rasio M/P semakin besar nilai potensial zeta (Gambar 5). MOHANRAJ dan CHEN (2006) melaporkan bahwa nanoemulsi dengan nilai potensial zeta di atas (+/-) 30 mV adalah nanoemulsi yang stabil. Peneliti lain melaporkan nanoemulsi yang stabil jika memiliki nilai potensial zeta di atas (+/-) 20 mV (PIORKOWSKI dan MCCLEMENTS, 2013). Nilai potensial zeta yang kecil

disebabkan pengemulsi Tween 80 merupakan pengemulsi yang bersifat non ionik sehingga tidak memberikan sumbangan muatan positif ataupun negatif terhadap potensial zeta nanoemulsi. Agregasi droplet dapat dicegah karena adanya mekanisme tolakan antar gugus hidrofilik pada molekul pengemulsi Tween 80. Pada penelitian ini, kestabilan nanoemulsi ditunjukkan dengan nilai viskositas nanoemulsi setelah penyimpanan selama 15 minggu pada suhu 10°C yang relatif tidak mengalami perubahan. Viskositas nanoemulsi hanya mengalami peningkatan sebesar 0,15 mPas (Gambar 6).



Gambar 5. Hubungan antara rasio M/P dengan potensial zeta nanoemulsi yang dihomogenisasi pada tekanan 50 MPa dan 7 siklus

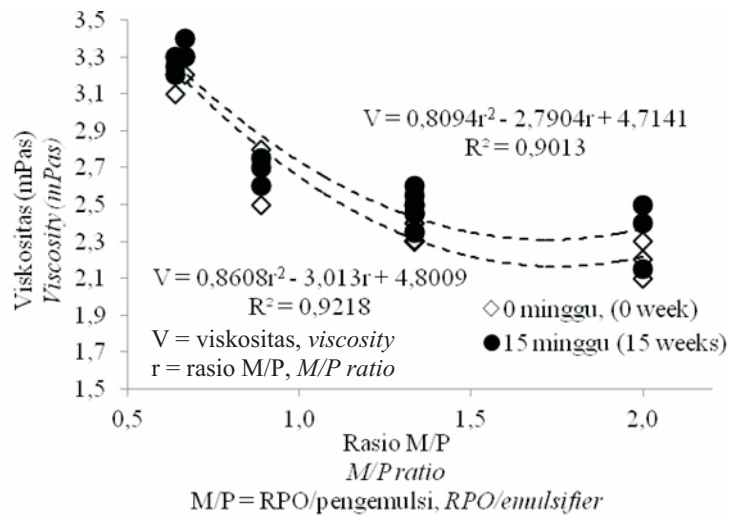
Figure 5. Relationship between M/P ratio and zeta potential of nanoemulsions were homogenized at pressure of 50 MPa and 7 cycles

Viskositas

Secara keseluruhan nanoemulsi yang diperoleh memiliki viskositas berkisar 2,1 sampai 3,4 mPas. Semakin meningkat rasio M/P, viskositas nanoemulsi semakin kecil. Dengan kata lain, semakin meningkat konsentrasi pengemulsi menyebabkan viskositas semakin tinggi (LOVELYN dan ATTAMA, 2011). Hal ini sejalan karena terjadi peningkatan total padatan dalam nanoemulsi.

Selama penyimpanan 15 minggu pada suhu 10°C, viskositas nanoemulsi tidak mengalami perubahan yang signifikan. Gambar 6 menunjukkan hubungan antara rasio

M/P dengan viskositas pada pengamatan awal (minggu ke-0) dan pengamatan setelah penyimpanan selama 15 minggu pada suhu 10°C. Menurut hubungan tersebut terlihat bahwa viskositas nanoemulsi setelah penyimpanan selama 15 minggu pada rasio M/P 1,33 hanya meningkat 0,12 mPas, yaitu dari nilai 2,34 menjadi 2,47 mPas. Sementara itu pada nanoemulsi dengan rasio M/P 2,0 terjadi peningkatan sebesar 0,15 mPas, yaitu dari 2,20 menjadi 2,35 mPas. Hal ini menunjukkan bahwa semakin kecil rasio M/P nanoemulsi semakin stabil selama penyimpanan.



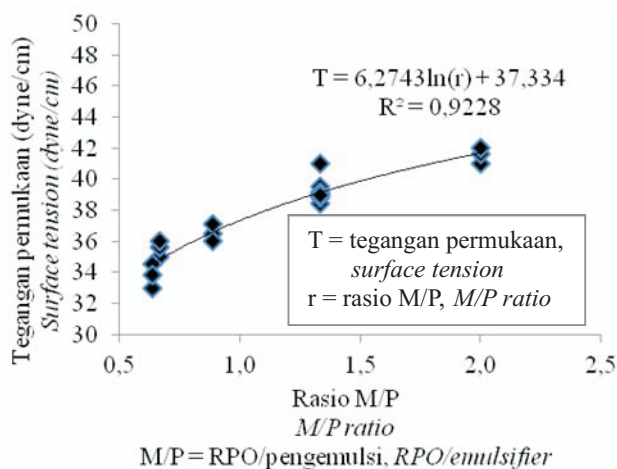
Gambar 6. Hubungan antara rasio M/P dengan viskositas nanoemulsi yang dihomogenisasi pada tekanan 50 MPa dan 7 siklus
 Figure 6. Relationship between M/P ratio and nanoemulsions viscosity were homogenized at pressure of 50 MPa and 7 cycles

Tegangan permukaan

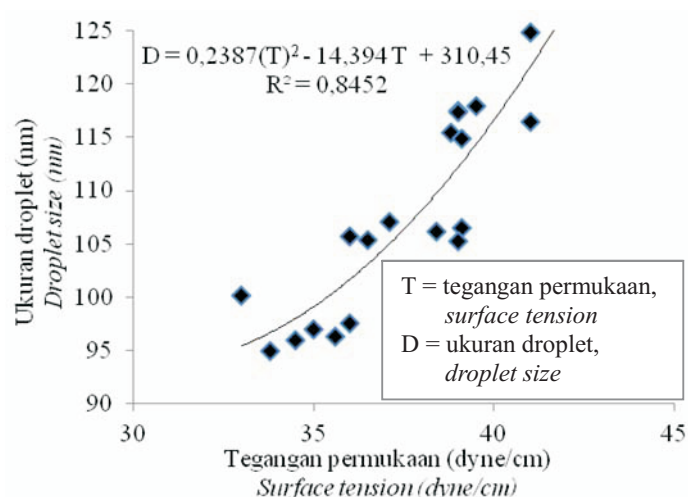
Dalam proses pembentukan nanoemulsi, pengemulsi berperan penting dalam proses pemecahan droplet. Pengemulsi berada pada ruang antar muka yang menyebabkan penurunan tegangan permukaan air dan minyak sehingga mengurangi jumlah energi yang diperlukan untuk memecahkan droplet dan droplet lebih mudah dipecah selama proses homogenisasi (MAO et al., 2009; MCCLEMENTS, 2013). Hasil penelitian menunjukkan semakin kecil rasio M/P, tegangan permukaan sistem nanoemulsi semakin rendah. Nanoemulsi yang dihasilkan

memiliki tegangan permukaan sebesar 33,0 sampai 41,6 dyne/cm (Gambar 7).

Pengemulsi juga mencegah terjadinya koagulasi droplet. Selama proses homogenisasi, pengemulsi akan melindungi permukaan droplet dan mencegah terjadinya koagulasi dengan droplet yang baru (MCCLEMENTS, 2013). Gambar 8 menunjukkan tegangan permukaan nanoemulsi yang semakin rendah akan menyebabkan ukuran droplet nanoemulsi yang terbentuk semakin kecil. Hal ini disebabkan karena semakin banyak jumlah pengemulsi, tegangan permukaan semakin rendah sehingga proses pemecahan droplet semakin efisien dan ukuran droplet yang dihasilkan semakin kecil.



Gambar 7. Hubungan antara rasio M/P dengan tegangan permukaan nanoemulsi yang dihomogenisasi pada tekanan 50 MPa dan 7 siklus
 Figure 7. Relationship between M/P ratio and surface tension of nanoemulsions were homogenized at pressure of 50 MPa and 7 cycles



Gambar 8. Hubungan antara tegangan permukaan dengan ukuran droplet nanoemulsi yang dihomogenisasi pada tekanan 50 MPa dan 7 siklus
 Figure 8. Relationship between surface tension and nanoemulsions droplet size were homogenized at pressure of 50 MPa and 7 cycles

Kadar β-karoten

Nanoemulsi yang diperoleh mengandung β-karoten antara 47,6 sampai 130,9 mg/l dengan persentase *yield* berkisar 60,4 sampai 77% (Tabel 3). Berdasarkan data persentase *yield* ini, semakin besar rasio M/P persentase *yield* β-karoten semakin rendah. Persentase *yield* relatif

tinggi sekitar 72,2 sampai 77% diperoleh pada sampel nanoemulsi dengan rasio M/P kurang dari 1. Hal ini menunjukkan keberadaan jumlah pengemulsi Tween 80 yang semakin banyak dalam nanoemulsi akan memberikan perlindungan yang lebih kuat terhadap kestabilan β-karoten dalam sampel nanoemulsi.

Tabel 3. Konsentrasi β -karoten dan persentase *yield* β -karoten nanoemulsi
 Table 3. β -carotene concentration and yield percentages of β -carotene nanoemulsions

Rasio RPO/pengemulsi <i>RPO/emulsifier ratio</i>	Konsentrasi β -karoten <i>Concentration of β-carotene</i> (mg/l)	Persentase <i>yield</i> β -karoten <i>Yield percentages of β-carotene</i> (%)
0,6	62,7	73,5
0,7	47,6	72,2
0,9	101,4	77,0
1,3	79,9	60,6
1,3	80,5	61,1
1,3	79,6	60,4
2,0	130,9	66,3

KESIMPULAN

Nanoemulsi RPO yang diperkaya β -karoten dapat diperoleh melalui proses homogenisasi RPO, pengemulsi dan air (larutan buffer 0,01 M pH 7,0) dengan HPH. Formula terpilih yang dapat menghasilkan nanoemulsi dengan ukuran droplet berkisar 105 sampai 125 nm dan stabil yang ditunjukkan dengan viskositas yang relatif tidak mengalami perubahan (Δ 0,15 mPas) setelah penyimpanan selama 15 minggu pada suhu 10°C adalah rasio RPO dan pengemulsi berkisar 1,33 sampai 2,0. Kadar β -karoten berkisar 79,6 sampai 130,9 mg/l.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada pimpinan dan staf Laboratorium Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan IPB, *Pilot plant* dan Laboratorium Kimia SEAFast CENTER IPB, serta Laboratorium Teknologi Farmasi dan Medika LAPTIAB – BPPT Kawasan Puspiptek Serpong yang telah memberikan fasilitas penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

AHMED, K., Y. LI, D.J. MCCLEMENTS, and H. XIAO. 2012. Nanoemulsion and emulsion based delivery systems for curcumin: encapsulation and release properties. *J. Food Chem.* 132: 799-807. doi:10.1016/j.foodchem.2011.11.039.

[AOAC]. 2005. Official Methods of Analysis Vitamin A (Retinol) in Foods. AOAC Official Method 2001.13. Association of Official Analytical Chemists. 64 p.

BERNARDI, D.S., T.A. PEREIRA, N.R. MACIEL, J. BORTOLOTO, G.S. VIERA, G.C. OLIVEIRA, and P.A. ROCHA-FILHO. 2011. Formation and stability of oil-in-water nanoemulsions containing rice bran oil: in vitro and in vivo assessments. *J. Nanobiotechnology.* 9(44): 1-9. <http://www.jnanobiotechnology.com/content/9/1/44>. [diunduh Tgl. 6 April 2012].

BHALODIA, S.P., and P. SHELAT. 2010. Nanoemulsion, a pharmaceutical review. *Sys. Rev. Pharm.* 1(1): 24-32. <http://www.google.com/research.che.tamu.edu>. [diunduh Tgl 6 April 2012].

EDEM, D.O. 2002. Palm oil: biochemical, physiological, nutritional, hematological, and toxicological aspects. *J. Plant Foods for Human Nutrition.* 57: 319-341. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12602939>. [diunduh Tgl 16 Januari 2012].

[FDA]. 2009. Food Labeling. Food and Drugs Administration Department of Health and Human Services Subchapter B-Food for Human Consumption. Food and Drugs Administration. <http://www.accessdata.fda.gov>. [diunduh Tgl. 20 November 2011].

FERNANDEZ-GARCIA, E., I.CARVAJAL-LERIDA, M.JAREN-GALAN, J.GARRIDO-FERNANDEZ, A.PEREZ-GALVEZ, and D.HORNERO-MENDEZ, 2012. Carotenoids bioavailability from foods: from plant pigments to efficient biological activities. *J. Food Res.* 46: 438-450. doi:10.1016/j.foodres.2011.06.007.

JAFARI, S.M., E. ASSADPOOR, Y. HE, and B. BHANDARI. 2008. Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification. *J. Food Hyd.* 22: 1191-1202. doi:10.1016/j.foodhyd.2007.09.006.

LEE, S.J. and D.J. MCCLEMENTS. 2010. Fabrication of protein-stabilized nanoemulsions using a combined homogenization and amphiphilic solvent dissolution/evaporation approach. *J. Food Hyd.* 24: 560-569. doi:10.1016/j.foodhyd.2010.02.002.

LOVELYN, C. and A.A. ATTAMA. 2011. Current state of nanoemulsions in drug delivery. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology.* 2: 626-639. doi:10.4236/jbmb.2011.225075.

MANORAMA, R., G.N.V. BRAHMAM, and C. RUKMINI. 1996. Red palm oil as a source of β -carotene for combating vitamin A deficiency. *Plant Food for Human Nutrition.* 49: 75-82. <http://www.cansa.org.za/files/2011/04/Manorama-et-al-carotenes.pdf>. [diunduh Tgl. 16 Januari 2012].

MAO, L., D. XU, J. YANG, F. YUAN, Y. GAO, and J. ZHAO. 2009. Effects of small and large molecule emulsifiers on

- the characteristics of β -carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization. *Food Technol. Biotechnol.* 47(3): 336-342. <http://www.ftb.com.hr/47/47-336.pdf>. [diunduh Tgl. 9 Maret 2012].
- MAYAMOL, P.N., BALACHANDRAN, T. SAMUEL, A. SUNDARESAN, and C. ARUMUGHAN. 2007. Process technology for the production of micronutrient rich red palm olein. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 84: 587-596. doi:10.1007/s11746-007-1078-9.
- MCCLEMENTS, D.J. 2013. Edible lipid nanoparticles: digestion, absorption, and potential toxicity. *J. Progress in Lipid Research.* 52: 409-423. doi:10.1016/j.plipres.2013.04.008.
- MOHANRAJ, V.J. and Y. CHEN. 2006. Nanoparticles. *Trop. J. Pharm. Res.* 5(1): 561-573. <http://www.ajol.info/index.php/tjpr/article/download/14634/2739>. [diunduh Tgl. 23 September 2013].
- PIORKOWSKI, D.T. and D.J. MCCLEMENTS. 2013. Beverage emulsions: recent developments in formulation, production, and applications. *J. Food Hyd.* XXX: 1-37. doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.07.009. In press.
- QIAN, C., E.A. DECKER, H. XIAO, and D.J. MCCLEMENTS. 2012. Physical and chemical stability of β -carotene-enriched nanoemulsions: influence of pH, ionic strength, temperature, and emulsifier type. *J. Food Chem.* 132: 1221-1229. doi:10.1016/j.foodchem.2011.11.091.
- SAMBANTHAMURTI, R., K. SUNDRAM, and Y.A. TAN. 2000. Chemistry and biochemistry of palm oil. *Progress in Lipid Research.* 39: 507-558. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11106812>. [diunduh Tgl. 16 Januari 2012].
- SUNDRAM, K. 2005. Meeting the rising health awareness: the palm oil formula. *Palm Oil Developments.* 43: 20-28. <http://www.researchgate.net/publication/242573940>. [diunduh Tgl. 27 November 2012].
- TAN, C.P. and M. NAKAJIMA. 2005. β -carotene nanodispersions: preparation, characterization and stability evaluation. *J. Food Chem.* 92: 661-671. doi:10.1016/j.foodchem.2004.08.044.
- TRENTIN, S., S. DE LAMO, C. GUELL, F. LOPEZ, and M. FERRANDO. 2011. Protein-stabilized emulsions containing beta-carotene produced by premix membrane emulsification. *J. Food Eng.* 106: 267-274. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2011.03.013.
- XU, D., X. WANG, J. JIANG, F. YUAN, and Y. GAO. 2012. Impact of whey protein-beet pectin conjugation on the physicochemical stability of β -carotene emulsions. *J. Food Hyd.* 28: 258-266. doi: 10.1016/j.foodhyd.2012.01.002.
- YUAN, Y., Y. GAO, J. ZHAO, and L. MAO. 2008. Characterization and stability evaluation of β -carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization under various emulsifying conditions. *J. Food Res.* 41: 61-68. doi:10.1016/j.foodres.2007.09.006.
- ZAGRE, N.M., F. DELPEUCH, P. TRAISSAC, and H. DELISLE. 2003. Red palm oil as a source of vitamin A for mothers and children: impact of a pilot project in Burkina Faso. *Public Health Nutr.* 6: 733-42. doi: 10.1079/PHN2003502.
- ZIANI, K., Y. FANG, and D.J. MCCLEMENTS. 2012. Fabrication and stability of colloidal delivery systems for flavor oils: Effect of composition and storage conditions. *J. Food Res.* 46: 209-221. doi: 10.1016/j.foodres.2011.12.017.