

KRISTALISASI PELARUT SUHU RENDAH PADA PEMBUATAN KONSENTRAT VITAMIN E DARI DISTILAT ASAM LEMAK MINYAK SAWIT: KAJIAN JENIS PELARUT

*Low Temperature Crystallization for Vitamin E Concentrate Preparation
from Palm Fatty Acid Distillate: Study on Solvent Type*

Kgs. Ahmadi

Jurusan Teknologi Industri Pertanian – Fakultas Pertanian
Universitas Tribhuwana Tunggaladewi

ABSTRACT

Palm Fatty Acid Distillate (PFAD) is one source of natural vitamin E enrich with tocotrienol. This research aimed to apply low temperature solvent crystallization in vitamin E concentrate preparation from PFAD. The advantage of this method is simple and low temperature use. The crystallized PFAD fraction was unsaponifiable fraction from saponification process. The elucidated factor was solvent type. The result showed that PFAD contained vitamin E comprised of α tocopherol and α , δ , γ tocotrienol and the major component was fatty acids. The saponification process decreased free fatty acid content and increased vitamin E concentration. The solvent type affected the characteristic of vitamin E concentrate including the concentration of vitamin E, antioxidant activity, free fatty acids content, and yield. The most suitable solvent was hexane due to its non polar characteristic.

Keywords: low temperature crystallization, vitamin E concentrate, palm fatty acid distillate

PENDAHULUAN

DALMS (Distilat Asam Lemak Minyak Sawit) merupakan hasil samping pengolahan minyak sawit dan dihasilkan pada tahap deodorisasi. Jumlah DALMS yang dihasilkan pada proses pengolahan sawit di Indonesia mencapai 4,14 juta ton (Ekonomi dan Bisnis, 2007). Menurut Lewis (2001) DALMS merupakan salah satu sumber vitamin E alami. Musalmah *et al.* (2005) menyatakan keunggulan DALMS adalah sebagian besar vitamin E dalam bentuk tokotrienol (70%) dan sisanya adalah tokoferol (30%). Tokotrienol mempunyai efek fisiologis yang lebih luas dari tokoferol (Ng *et al.*, 2004; Nesaretnam *et al.*, 2004; Musalmah *et al.*, 2005; Wali dan Sylvester, 2007).

Ahmadi (1997) telah mengembangkan proses pemisahan fraksi kaya tokoferol dari DALMS dengan teknik saponifikasi dan adsorpsi. Komponen

yang terdapat dalam fraksi tidak tersabunkan adalah vitamin E dan sterol (Watanabe *et al.*, 2004). Fraksi ini mengandung 86% tokoferol yang ada dalam DALMS, tetapi kadar tokoferol pada fraksi ini masih rendah yaitu 27.909,23 $\mu\text{g/g}$ (Pitoyo, 1991). Pemurnian tokoferol dengan teknik adsorpsi menggunakan zeolit menunjukkan kemurnian tokoferol masih rendah (Ahmadi, 1997). Oleh karena itu perlu dikembangkan teknik lain untuk meningkatkan kadar vitamin E dari fraksi tidak tersabunkan DALMS. Teknik yang dikembangkan tersebut juga harus mampu memisahkan tokoferol dari tokotrienol sehingga diperoleh konsentrat vitamin E.

Teknik yang telah dikembangkan pada proses pembuatan konsentrat vitamin E dari minyak nabati meliputi metilasi kimia, distilasi molekuler, dan fraksinasi etanol (Nagao *et al.*, 2004), adsorpsi dengan adsorben (Ahmadi, 1997;

Chu *et al.*, 2004; Chu *et al.*, 2005; Wan *et al.*, 2008), ekstraksi dengan cairan superkritis (Ibanez *et al.*, 2002), enzimatis dan distilasi molekuler (Watanabe *et al.*, 2004), serta kombinasi distilasi, saponifikasi, dan winterisasi (Lewis, 2001). Teknik-teknik tersebut rumit dan umumnya melibatkan suhu tinggi. Isomer vitamin E sangat peka terhadap suhu, cahaya dan oksigen (Park *et al.*, 2007). Oleh karena itu perlu dikembangkan teknik pembuatan konsentrat vitamin E dari DALMS yang sederhana dan aplikatif menggunakan suhu rendah.

Keunggulan kristalisasi pelarut adalah penggunaan suhu rendah dan mudah diaplikasikan dengan peralatan sederhana. Pelarut digunakan pada tahap kristalisasi. Pada tahap ini, terjadi proses kristalisasi komponen-komponen yang tidak larut dalam pelarut dan mempunyai titik beku yang lebih tinggi dari suhu yang digunakan akan membeku dan membentuk kristal. Pelarut berperan penting untuk menurunkan viskositas (Krishnamurthy and Kellens, 1995). Viskositas yang rendah menyebabkan perpindahan massa menjadi mudah sehingga proses kristalisasi bersifat efisien. Hal ini akan mempermudah proses separasi komponen yang diinginkan.

Jenis pelarut berperan penting pada proses kristalisasi karena pelarutan merupakan faktor penting pada proses kristalisasi. Kelarutan suatu komponen dalam pelarut ditentukan oleh polaritas masing-masing. Pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non polar akan melarutkan senyawa non polar. Diduga ada sedikit perbedaan polaritas dari komponen-komponen yang ada dalam fraksi tidak tersabunkan DALMS, termasuk perbedaan polaritas tokoferol dan tokotrienol serta masing-masing isomernya. Oleh karena itu, penentuan jenis pelarut yang tepat penting dilakukan pada pembuatan konsentrat vitamin E. Pada proses kristalisasi, pelarut mempengaruhi kecepatan nukleasi dan morfologi kristal.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah DALMS yang diambil dari industri pengolah minyak goreng. Standar vitamin E (α tokoferol dan α , γ , δ tokotrienol) dan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) dari Sigma Co., methanol (HPLC *grade*), KOH, etanol, natrium klorida, kloroform, asam asetat, natrium tiosulfat, pati, KI, gas nitrogen, asam askorbat, HCl, KOH, heksana, BaCl₂, Na₂SO₄ (p.a. dari Merck), heksana, etanol, aseton, isopropanol (teknis), kertas saring kasar, dan kertas saring Whatman No.1.

Peralatan

Peralatan yang digunakan meliputi perangkat HPLC Beckman, corong pemisah, *freezer*, inkubator, rotavapor, spektrofotometer (Spectronic), *water bath*, termometer digital, peralatan gelas, *hot plate*, dan pengaduk magnet.

Metode penelitian

Tahapan pembuatan konsentrat vitamin E meliputi tahap saponifikasi dan kristalisasi pelarut. DALMS dan fraksi tidak tersabunkan yang diperoleh dari proses saponifikasi dikarakterisasi meliputi jenis dan kadar isomer vitamin E (α tokoferol dan α , δ , γ tokotrienol), bilangan peroksida, kadar asam lemak bebas, serta aktivitas antioksidan dan rendemen untuk fraksi tidak tersabunkan.

a. Saponifikasi

Saponifikasi dilakukan pada DALMS untuk memisahkan asam lemak bebas dengan fraksi tidak tersabunkan. Saponifikasi dilakukan sesuai dengan penelitian Ahmadi (1997).

b. Kristalisasi pelarut suhu rendah

Penentuan jenis pelarut terbaik dilakukan sebagai berikut: 5 g fraksi tidak tersabunkan DALMS dilarutkan dalam pelarut tergantung perlakuan (heksana, aseton, etanol, atau isopropanol) pada

rasio pelarut:fraksi tidak tersabunkan 6:1 dan suhu kristalisasi -10°C. Setelah 24 jam, fase kristal dipisahkan dari filtrat dengan cara penyaringan. Pelarut dalam filtrat diuapkan dengan rotavapor. Residu yang diperoleh adalah konsentrat vitamin E yang dianalisis meliputi kadar vitamin E, aktivitas antioksidan, bilangan peroksida, kadar asam lemak bebas, dan rendemen.

Rancangan percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap satu faktor dengan 3 kali ulangan. Faktor dan level yang dikaji adalah sebagai berikut:

- J = jenis pelarut
- J1 = heksana
- J2 = aseton
- J3 = etanol
- J4 = isopropanol

Analisis ragam dilakukan dan dilanjutkan uji lanjut dengan DMRT jika perlakuan menunjukkan pengaruh yang signifikan ($\alpha=0,05$).

Metode analisis

Metode yang digunakan untuk menganalisis parameter yang dikaji pada penelitian ini meliputi kadar α tokoferol dan α , δ , γ tokotrienol dengan HPLC (Nielsen dan Hansen, 2008), aktivitas antioksidan metode DPPH (Kim, 2005), bilangan peroksida metode ferriklorida (Kim, 2005), kadar asam lemak bebas (AOCS, 1989), dan rendemen

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik DALMS dan Fraksi Tidak Tersabunkan DALMS

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah Distilat Asam Lemak Minyak Sawit (DALMS). DALMS merupakan hasil samping proses pemurnian minyak sawit secara fisik (*physical refining*). Komponen utama dalam DALMS adalah asam lemak bebas, dan DALMS mengandung komponen minor yang menguap pada proses

deodorisasi. Proses pemurnian secara fisik menyebabkan fitosterol dan tokotrienol teruapkan dan terkonsentrasi dalam distilat *deodorizer*.

Tabel 1. Karakteristik DALMS dan fraksi tidak tersabunkan

Karakteristik	DALMS	Fraksi Tidak Tersabunkan
Kadar asam lemak bebas (%)	95,75	7,99
Bilangan peroksida (mek/kg)	0,27	0,92
Kadar vitamin E (g/100g)	0,45	12,087
α tokoferol	0,15	4,047
α tokotrienol	0,08	2,124
δ tokotrienol	0,13	3,512
γ tokotrienol	0,09	2,404
Total tokotrienol	0,30	8,040
Aktivitas antioksidan (%)	Tidak dianalisis	81,51
Rendemen (%)	-	3,75

DALMS mengandung vitamin E yang cukup tinggi yaitu 0,45 g/100 g atau 4500 ppm atau 4500 mg/kg. Nilai ini sangat tinggi dibandingkan sumber vitamin E yang lain seperti bekatul (300 ppm) (Xu *et al.*, 2001), biji-bijian dan berry dengan kisaran 84-318 dan 56-140 ppm (Kallio *et al.*, 2002), dan minyak zaitun (100-270 ppm) (Cunha *et al.*, 2006).

Komposisi vitamin E dari DALMS adalah α tokoferol 33,48%, α tokotrienol 17,57%, δ tokotrienol 29,06%, dan γ tokotrienol 19,89%. Tokotrienol merupakan komponen terbesar vitamin E DALMS yang jumlahnya mencapai 66,52%, dan sisanya adalah tokoferol dalam bentuk α tokoferol sebanyak 33,48%. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yaitu Musalmah *et al.* (2005) yang menyatakan bahwa keunggulan DALMS adalah sebagian besar vitamin E dalam bentuk tokotrienol (70%) dan sisanya adalah tokoferol (30%).

Menurut Puah *et al.* (2007), komposisi vitamin E minyak sawit selama proses pemurnian adalah α tokoferol (14-17%), α tokotrienol (22-24%), γ tokotrienol (49-53%), δ tokotrienol (6-7%) dan α -tokomonoenol (3%). Total tokotrienol dalam DALMS pada penelitian

ini lebih rendah dari minyak sawit. Diduga proses pemanasan suhu tinggi pada deodorisasi menyebabkan tokotrienol mengalami kerusakan yang lebih intensif dibandingkan tokoferol. Dilihat dari struktur molekulnya, tokotrienol mempunyai ikatan rangkap pada rantai phytyl yang diduga menyebabkan tokotrienol lebih labil terhadap panas dibandingkan tokoferol.

Total tokoferol dalam minyak sawit kasar adalah 1000 mg/kg, dengan γ tokotrienol sebagai komponen tokol utama diikuti oleh α tokoferol, α tokotrienol dan δ tokotrienol (Puah *et al.*, 2007). Kadar tokoferol meningkat setelah pemucatan dengan asam. Perlakuan pemucatan dan pemurnian secara fisik mengubah proporsi vitamin E, yaitu meningkatkan kadar α tokotrienol dalam minyak sawit murni. Selama proses pemurnian alkali vitamin E teruapkan dan kadarnya dalam minyak sawit murni menurun menjadi 356–630 mg/kg.

Jumlah asam lemak bebas dan peroksida pada DALMS tinggi karena DALMS merupakan hasil samping proses pemurnian minyak sawit pada tahapan deodorisasi. Menurut Hui (1996), 80 – 90% kandungan DALMS adalah asam lemak bebas. Ahmadi (1997) mendapatkan bahwa bilangan peroksida 15,98 mek/kg dengan α tokoferol 1.509,91 mg/kg.

Bilangan peroksida yang rendah pada DALMS yang digunakan pada penelitian ini diduga disebabkan bahwa DALMS yang digunakan masih segar, walaupun sebagian produk hasil oksidasi menguap pada proses deodorisasi. Bilangan peroksida yang rendah menunjukkan bahwa tingkat oksidasi DALMS yang juga rendah. Menurut Carlsson (1995), produk oksidasi selama proses pengolahan CPO (*crude palm oil*) hilang pada saat deodorisasi dan DALMS merupakan hasil samping deodorisasi. Produk oksidasi tidak terakumulasi dalam DALMS karena bersifat volatil sehingga

tidak terekoveri pada saat distilasi menjadi DALMS.

Distilat asam lemak minyak sawit yang akan digunakan pada kristalisasi pelarut suhu terlebih dahulu dilakukan saponifikasi. Fraksi tidak tersabunkan DALMS selanjutnya diambil untuk digunakan pada tahapan kristalisasi pelarut suhu rendah. Hasil analisis karakteristik fraksi tidak tersabunkan dapat dilihat pada Tabel 1.

Bila dibandingkan DALMS dengan fraksi tidak tersabunkan dari DALMS, kadar asam lemak bebas yang menurun signifikan yaitu dari 95,75% menjadi 7,99%. Reaksi KOH dengan asam lemak bebas menghasilkan sabun sehingga mudah dipisahkan dari fraksi tidak tersabunkan. Hal ini menyebabkan jumlah asam lemak bebas pada fraksi tidak tersabunkan menjadi sangat menurun.

Dibandingkan DALMS, kadar vitamin E fraksi tidak tersabunkan jauh lebih tinggi (Tabel 1). Proses saponifikasi menghasilkan fraksi tidak tersabunkan. Menurut Mitei *et al.* (2009), komponen terbesar dari fraksi tidak tersabunkan adalah fitosterol dan vitamin E.

Jenis-jenis vitamin E yang terdapat pada fraksi tidak tersabunkan DALMS dapat dilihat pada Tabel 1. Komposisi vitamin E fraksi tidak tersabunkan dan DALMS adalah sama. Tokotrienol mempunyai kadar yang lebih tinggi dibandingkan tokoferol. Peningkatan kadar vitamin E fraksi tidak tersabunkan dari DALMS adalah 26,86 kali, yaitu dari 0,45 g/100 g pada DALMS menjadi 12,87 g/100 g pada fraksi tidak tersabunkan DALMS. Komponen lain yang ada dalam fraksi tidak tersabunkan DALMS selain asam lemak bebas adalah fitosterol, hidrokarbon, dan lilin (Hodgson, 1995).

Aktivitas antioksidan fraksi tidak tersabunkan cukup tinggi yaitu 81,51%. Hal ini menunjukkan fraksi tidak tersabunkan dari DALMS mengandung antioksidan yang cukup tinggi. DALMS mengandung asam lemak bebas, aldehida

dan keton, pigmen karotenoid terdegradasi, sterol, hidrokarbon, tokoferol, dan tokotrienol (Hui, 1992). Komponen lain dalam DALMS adalah komponen hasil degradasi seperti alkena (dari asam lemak atau gliserida), hidrokarbon aromatis (dari karoten), dan hidrokarbon diterpena (dari tokotrienol) Proses saponifikasi menghasilkan fraksi tidak tersabunkan yang terdiri dari aldehida dan keton, karotenoid, sterol, hidrokarbon, tokoferol dan tokotrienol. Menurut Hodgson (1995), proses penyabunan menyebabkan asam lemak dan gliserida tersabunkan. Komponen lain yang tidak tersabunkan adalah vitamin E, lilin, hidrokarbon, dan sterol. Sterol dalam minyak sawit terdiri dari kampesterol, stigmasterol, dan β sitosterol.

Rendemen fraksi tidak tersabunkan dari DALMS sebesar 3,75%. Angka ini sudah tinggi karena menurut Hui (1996) kandungan fraksi tidak tersabunkan dari DALMS berkisar antara 1,6–3,7%. Ini menunjukkan bahwa saponifikasi yang dilakukan sudah optimum karena dapat menghasilkan rendemen yang maksimum akan tetapi kadar asam lemak bebas masih cukup tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan jumlah KOH yang dibutuhkan masih kurang sehingga masih ada asam lemak bebas yang tidak tersaponifikasi. Akan tetapi, saponifikasi telah cukup mendapatkan fraksi tidak tersabunkan untuk diproses menjadi konsentrat vitamin E.

Karakteristik Konsentrat Vitamin E

a. Kadar Vitamin E

Kandungan vitamin E menunjukkan heksana merupakan pelarut yang menghasilkan kandungan vitamin E tertinggi dibandingkan dengan ketiga jenis pelarut lainnya. Hasil uji DMRT 5% menunjukkan pelarut heksana menghasilkan 29,70 g/100 g vitamin E sedangkan isopropanol 14,97 mg/100 g, etanol, 14,95 mg/100 g dan aseton 14,48 g/100 g (Tabel 2).

Tabel 2. Kandungan vitamin E konsentrat

Jenis Pelarut	Kadar vitamin E
Heksana	29,70 ^a
Isopropanol	14,97 ^b
Etanol	14,95 ^b
Aseton	14,48 ^b

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada DMRT 5%

Kandungan vitamin E tertinggi pada pelarut heksana menunjukkan bahwa kelarutan vitamin E (tokoferol dan tokotrienol) paling tinggi. Berdasarkan polaritas maka heksana termasuk kedalam pelarut organik non polar. Polaritas yang paling mendekati dengan vitamin E menyebabkan kelarutan vitamin E dalam heksana lebih tinggi.

Vogel (1978) menjelaskan bahwa (1978) pelarut yang terbaik untuk ekstraksi adalah pelarut yang mempunyai daya melarutkan yang tinggi. Hal ini berhubungan dengan kepolaran pelarut dan kepolaran senyawa yang akan diambil. Terdapat kecenderungan kuat bagi senyawa polar larut ke dalam pelarut polar dan senyawa non polar larut ke dalam pelarut non polar.

Vitamin E merupakan vitamin larut lemak yang terdiri dari cincin aromatis kromanol dan rantai samping *phytil*. *Phytil* merupakan rantai hidrokarbon yang bersifat jenuh untuk tokoferol dan mempunyai tiga ikatan rangkap untuk tokotrienol. Gugus *phytil* ini mempunyai jumlah atom C sebanyak 16 sehingga cenderung bersifat non polar. Pelarut yang dikaji pada penelitian ini adalah heksana yang bersifat non polar, aseton yang bersifat semi polar, isopropanol yang bersifat polar, dan etanol yang bersifat polar. Hal ini yang menyebabkan kadar vitamin E tertinggi terdapat pada pelarut heksana. Pelarut yang lain yang digunakan mempunyai kemampuan melarutkan vitamin E lebih rendah dibandingkan heksana. Akibatnya vitamin E cenderung terakumulasi pada fraksi yang membentuk kristal sehingga kadarnya lebih rendah dibandingkan kadar vitamin E pada heksana.

Jika dibandingkan dengan kadar vitamin E pada DALMS, proses kristalisasi dalam berbagai pelarut meningkatkan kadar vitamin E sebesar 2,46 kali untuk heksana, 1,24 kali untuk aseton dan etanol, serta 1,20 kali untuk isopropanol. Peningkatan yang tajam terjadi pada pelarut heksana, sedangkan pelarut yang lain kurang mampu meningkatkan kadar vitamin E yang disebabkan oleh kemampuannya untuk melarutkan vitamin E yang rendah.

b. Aktivitas antioksidan

Aktivitas antioksidan menunjukkan kemampuan antioksidan untuk mencegah terjadinya oksidasi. Aktivitas antioksidan diukur menggunakan senyawa DPPH yang bersifat sebagai radikal bebas. Vitamin E merupakan jenis antioksidan primer yang mempunyai kemampuan untuk mengikat radikal bebas sehingga dapat mencegah oksidasi. Menurut Kim (2005) kemampuan ini dapat diukur menggunakan DPPH dan semakin besar persentase yang dihasilkan menunjukkan aktivitasnya sebagai antioksidan semakin baik.

Aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada konsentrat vitamin E yang diperoleh dari proses kristalisasi menggunakan pelarut heksana yaitu sebesar 93,39% (Tabel 3). Hal ini sejalan dengan kandungan vitamin E yang terkandung dalam konsentrat dengan pelarut heksana (29,7 g/100 g) tertinggi. Untuk pelarut etanol, isopropanol, dan aseton, aktivitas antioksidan tidak sejalan dengan kadar vitamin E. Hal ini diduga komposisi jenis-jenis vitamin E mempengaruhi aktivitas antioksidan.

Tabel 3. Aktivitas antioksidan konsentrat vitamin E

Jenis Pelarut	Rata-rata
Heksana	93,39 ^a
Isopropanol	84,84 ^b
Etanol	84,74 ^b
Aseton	82,31 ^c

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada DMRT 5%

Dibandingkan dengan fraksi tidak tersabunkan, terjadi peningkatan aktivitas antioksidan konsentrat vitamin E. Hal ini disebabkan kadar vitamin E yang meningkat terutama meningkat tajam pada pelarut heksana. Senyawa-senyawa pengotor yang ada dalam DALMS seperti hidrokarbon, lilin, dan sterol berkurang banyak ketika dilakukan proses kristalisasi. Pada proses kristalisasi, senyawa-senyawa tersebut mengkristal karena mempunyai titik leleh yang tinggi. Akibatnya kadar vitamin E meningkat dan kadar senyawa-senyawa pengotor menurun. Komponen-komponen lain selain vitamin E dalam DALMS tidak bersifat sebagai antioksidan sehingga penurunan kadarnya mengakibatkan kadar vitamin E meningkat dan aktivitas antioksidan mengalami peningkatan juga.

c. Bilangan peroksida

Bilangan peroksida merupakan produk hasil oksidasi primer dari asam lemak bebas. Pengujian empat pelarut yang dilakukan menunjukkan tidak terjadi perbedaan yang signifikan. Hasil uji DMRT 5% menunjukkan bahwa keempat jenis pelarut tidak berbeda nyata untuk bilangan peroksida akan tetapi terjadi peningkatan bilangan peroksida bila dibandingkan dengan bilangan peroksida fraksi tidak tersabunkan yaitu sebesar 0,22 mek/kg.

Tabel 4. Bilangan peroksida konsentrat vitamin E

Jenis Pelarut	Bilangan peroksida (mek/kg)
Heksana	0,28
Isopropanol	0,27
Etanol	0,33
Aseton	0,29

Peningkatan bilangan peroksida dibandingkan fraksi tidak tersabunkan DALMS disebabkan oleh peroksida terakumulasi dalam pelarut dan tidak membentuk kristal sehingga kadarnya dalam konsentrat vitamin E mengalami peningkatan. Hal ini sejalan dengan

hasil penelitian Cahyanine dan Estiasih (2008) yang menunjukkan bahwa bilangan peroksida mengalami peningkatan pada fraksi kaya tokoferol yang diperoleh dari proses kristalisasi fraksi tidak tersabunkan minyak bekatul.

Peroksida merupakan senyawa hasil degradasi oksidatif asam lemak yang mempunyai berat molekul yang lebih rendah dari asam lemak. Hal ini yang menyebabkan terjadi perubahan titik leleh dari asam lemak jika berubah menjadi peroksida. Akibatnya pada suhu kristalisasi yang digunakan peroksida bersifat cair dan larut dalam pelarut.

Terdapat perbedaan kelarutan peroksida dalam berbagai jenis pelarut yang digunakan pada proses kristalisasi. Polaritas peroksida lebih tinggi dibandingkan asam lemak asalnya. Demikian pula, peroksida bersifat lebih polar dibandingkan asam lemak asalnya. Akibatnya, kelarutan peroksida yang baik adalah pada pelarut polar. Hal ini yang menyebabkan bilangan peroksida tertinggi terdapat pada pelarut etanol. Kelarutannya dalam heksana lebih terbatas dibandingkan pelarut polar seperti aseton dan etanol.

c. Kadar asam lemak bebas

Asam lemak bebasa merupakan asam lemak bebas yang tidak terikat dengan ikatan gliserol. Selama proses saponifikasi terjadi reaksi antara asam lemak dengan basa yang ditambahkan yaitu KOH. Asam lemak akan berikatan dengan atom K membentuk garam K-asam lemak. Saponifikasi bertujuan memisahkan asam lemak bebas dari senyawa-seyawa dalam fraksi tidak tersabunkan (Haagsma *et al* (1982). Kadar asam lemak bebas dalam fraksi tidak tersabunkan adalah 7,99%. DALMS mempunyai kadar asam lemak bebas 95% dan menurun menjadi 7,99% pada fraksi tidak tersabunkan akibat asam lemak bebas tersaponifikasi dengan KOH.

Proses kristalisasi dengan berbagai pelarut menghasilkan kadar asam lemak bebas pada konsentrat vitamin E yang

dihasilkan (Tabel 5). Kadar asam lemak bebas tertinggi ada pada pelarut etanol dan terendah pada pelarut heksana. Pelarut heksana menyebabkan penurunan kadar asam lemak bebas dibandingkan fraksi tidak tersabunkan, akan tetapi pelarut yang lain meningkatkan.

Tabel 5. Kadar asam lemak bebas konsentrat vitamin E pada pelarut berbeda

Jenis Pelarut	Rata-rata
Heksana	7,58 ^a
Isopropanol	9,19 ^b
Etanol	15,48 ^c
Aseton	9,78 ^b

Asam lemak bebas dibandingkan trigliserida bersifat lebih polar karena mempunyai gugus karboksilat. Polaritas dari asam lemak bebas bergantung pada panjang rantai dan ketidakjenuhan. Asam lemak dalam DALMS terdiri dari asam laurat (0.1-0.3%), asam miristat (0,9-1,5%), asam palmitat (42,9-57,4%), asam stearat (4,1-4,9%), asam oleat (32,8-36,6%), asam linoleat (8,6-11,3%), dan asam linolenat (0,2-0,6%) (Hui, 1996). Asam lemak yang mendominasi DALMS adalah asam palmitat dan oleat yang mempunyai atom C 16 dan 18.

Asam lemak bebas dalam DALMS larut pada proses kristalisasi dan tidak semuanya membentuk Kristal. Kemampuan membentuk kristal dari asam lemak bergantung pada titik lelehnya. Menurut Gunstone (1996) titik leleh asam lemak dominan dalam DALMS yaitu asam palmitat adalah 62,9°C, sedangkan asam linoleat lebih rendah dari asam palmitat karena bersifat lebih tidak jenuh. Kedua asam lemak ini diduga akan membentuk kristal selama kristalisasi pelarut, akan tetapi pembentukan kristal memerlukan waktu untuk nukleasi dan pertumbuhan kristal. Lama kristalisasi 24 jam belum secara sempurna mengkristalkan asam lemak bebas sehingga kadarnya mengalami peningkatan dalam konsentrat vitamin E yang dihasilkan, kecuali yang menggunakan pelarut heksana.

Faktor lain yang mempengaruhi pelarutan asam lemak bebas dan kemampuannya untuk membentuk kristal adalah polaritas pelarut yang digunakan dalam kristalisasi pelarut suhu rendah. Asam lemak bebas bersifat lebih polar dibandingkan trigliserida sehingga cenderung larut dalam pelarut polar, Hal ini yang menyebabkan kadarnya dalam etanol mengalami peningkatan akan tetapi menurun pada pelarut heksana. Pelarut yang lain, yaitu aseton bersifat semipolar dan isopropanol bersifat polar sehingga mampu melarutkan asam lemak bebas tetapi daya larutnya lebih rendah dibandingkan etanol.

d. Rendemen

Rendemen dihitung berdasarkan jumlah fraksi tidak tersabunkan yang digunakan sebelum kristalisasi dibagi dengan setelah kristalisasi. Rendemen yang diperoleh berbeda menurut masing-masing jenis pelarut. Rendemen tertinggi terdapat pada pelarut heksana, yaitu sebesar 50,82% dan terendah 22,57% pada pelarut etanol (Tabel 6).

Tabel 6. Rendemen konsentrat vitamin E setelah kristalisasi pada pelarut berbeda

Jenis Pelarut	Rata-rata
Heksana	50,82 ^a
Isopropanol	23,57 ^c
Etanol	22,57 ^c
Aseton	41,35 ^b

Kristalisasi suhu rendah bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang tidak diinginkan dalam konsentrat vitamin E yaitu sterol, lilin, dan hidrokarbon, dengan senyawa yang diinginkan yaitu vitamin E terutama tokotrienol. Fraksi tidak tersabunkan DALMS mengandung sejumlah senyawa sterol, lilin, dan hidrokarbon yang mempunyai titik leleh tinggi sehingga diharapkan mengkristal. Adapun vitamin E seperti tokoferol mempunyai titik leleh 2,5-3,5°C (Anonymous, 2007) sehingga pada suhu rendah yang digunakan pada penelitian ini hanya sebagian mengkristal.

Tokotrienol yang mempunyai ketidakterlarutan mempunyai titik leleh yang diduga lebih rendah dari titik leleh tokoferol sehingga konsentrat vitamin E yang dihasilkan kaya akan tokotrienol. Bernascouni *et al* (1995) menjelaskan bahwa metode kristalisasi pendinginan digunakan untuk memisahkan bahan-bahan yang kelarutannya berkurang drastis dengan menurunnya temperatur.

Rendemen yang dihasilkan bergantung pada jenis pelarut yang digunakan. Pelarut yang tidak mampu melarutkan senyawa-senyawa dalam fraksi tidak tersabunkan karena bersifat polar menghasilkan kristal dalam jumlah banyak karena hanya sedikit komponen yang larut dalam pelarut. Akibatnya rendemen yang dihasilkan menjadi rendah seperti pada pelarut etanol. Pelarut heksana mampu melarutkan komponen-komponen non polar termasuk vitamin E sehingga rendemen yang dihasilkan merupakan rendemen tertinggi. Tampaknya rendemen yang dihasilkan berbanding lurus dengan kenonpolaran pelarut. Semakin non polar pelarut, semakin tinggi rendemen.

KESIMPULAN

Pelarut terbaik ditentukan berdasarkan kadar vitamin E tertinggi, kadar asam lemak bebas terendah, bilangan peroksida terendah, dan rendemen tertinggi. Dari hasil analisis diketahui bahwa jenis pelarut terbaik adalah heksana. Kristalisasi pelarut suhu rendah dengan menggunakan heksana menghasilkan kadar vitamin E tertinggi, kadar asam lemak bebas terendah, bilangan peroksida terendah, dan rendemen tertinggi dalam konsentrat vitamin E yang dihasilkan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan pada PT Indofood Sukses Makmur Tbk atas dana penelitian Indofood Riset Nugraha 2008 dengan Kerjasama

Perjanjian Penelitian No. 026/DS/IRN-ISM/XI/2008.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmadi, K. 1997. Aktivasi Zeolit Alam dan Penggunaannya untuk Pemurnian Tokoferol dari Distilat Asam Lemak Minyak Sawit. Thesis. Program Pascasarjana – UGM, Yogyakarta
- Anonymous. 2007. Tocotrienol. <http://en.wikipedia.org/wiki/Tocotrienol>. Tanggal akses 13 Januari 2007
- AOCS. 1989. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemistry Society. 4th ed. Broadmaker Drive, Champaign, Illinois
- Cahyanine, M. dan T. Estiasih. 2008. Fraksi kaya tokoferol dari bekatul beras (*Oryza sativa*) dengan teknik kristalisasi pelarut suhu rendah. Jurnal Teknologi Pertanian 9(3): 165-172
- Carlsson, K.F. 1995. Deodorization. Dalam: Y-H Hui. (editor). Bailey's Industrial Oil and Fat Products. Edisi ke-5. Vol. 4. Edible Oil and Fat Products: Processing Technology. John Wiley & Sons, New York
- Chu, B. S., B.S. Baharin, Y.B. Man, and S.Y. Quek. 2004. Separation of vitamin E from palm fatty acid distillate using silica: I Equilibrium of batch adsorption. J. Food Eng. 62(1): 97-103
- Chu, B.S., Y.B. Baharin, Che Man, and S.Y. Quek. 2005. Comparison of selected adsorbents for adsorption and desorption of vitamin E from palm fatty acid distillate. Journal of Food Lipids 12(1): 23
- Cunha, S, M. J. S. Amaral, J. O. Fernandes, and M. B. P. Oliveira. 2006. Quantification of tocopherols and tocotrienols in Portuguese olive oils using HPLC with three different detection systems. J. Agric. Food Chem. 54: 3351-3356
- Ekonomi dan Bisnis. 2007. Kenaikan pungutan ekspor CPO tak efektif. Tanggal 31 Oktober 2007
- Gunstone, F.D. 1996. Fatty Acid and Lipid Chemistry. Blackie Academic & Professional, Glasgow
- Haagsma, N., C.M. van Gent., J.B. Luten., R.W. de Jong, and E. Van Doorm. 1982. Preparation of an n-3 fatty acids concentrate from cod liver oil. J. of Am. Oil Chem. Soc. 59(3):117-118
- Hui, Y-H. 1992. Encyclopedia of Food Science and Technology. John Wiley & Sons Inc., New York
- Hui, Y-H. 1996. Bailey's Industrial Oil and Fat Products. Fifth ed. Vol. 2. John Wiley & Son Inc., New York
- Hodgson, A.S. 1995. Refining and Bleaching. In Y.H. Hui (ed.). Bailey's Industrial Oil and Fat Products. Edible Oil and Fat Products: Processing Technology. John Wiley & Sons Inc., New York
- Ibanez, E., A.M.H. Benavides, F.J. Senorans, and G. Reglaro. 2002. Concentration of sterols and tocopherols from olive oil with supercritical carbon dioxide. J. of Am. Oil Chem. Soc. 79: 1255-1260.
- Kallio, H., B. Yang, P. Peippo, R. Tahvonon, and R. Pan. 2002. Triacylglycerols, glycerophospholipids, tocopherols, and tocotrienols in berries and seeds of two subspecies (ssp. *sinensis* and *mongolica*) of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*). J. Agric. Food Chem. 50: 3004-3009
- Kim, O. S. 2005. Radical scavenging capacity and antioxidant activity of the E vitamer fraction in rice bran. J. Food Sci. 70(3): 208-213
- Krishnamurthy, R. and M. Kellens. 1995. Fractionation and Winterization. In Y-H.Hui (ed.). Bailey's Industrial Oil and Fat Products. Edible Oil and Fat Products: Processing Technology. 5th ed. Vol. 4. A John Wiley & Sons, Inc., New York
- Lewis, J. 2001. Process for the production of tocotrienol. US Patent 6,838,104
- Mitei, Y.C., J. C. Ngila, S. O. Yeboah, L. Wessjohann, and J. Schmidt. 2009. Profiling of phytosterols, tocopherols and tocotrienols in selected seed oils from Botswana

- by GC-MS and HPLC. *J. Am. Oil Chem. Soc.* Published online April 26, 2009
- Musalmah, M., M. Y. Nizam, A. H. Fairuz, A.H. Noor Aini, A.I. Azian, M.T. Gapor, and W.Z. Wan Ngah. 2005. Comparative effects of palm vitamin E and α tocopherol on healing and wound tissue antioxidant enzyme levels in diabetic rats. *Lipids* 40: 575-580
- Nagao, T., Y. Hirota, Y. Watanabe, T. Kobayashi, N. Kishimoto, T. Fujita, M. Kitano, and Y. Shimada. 2004. Recovery of sterol as fatty acid steryl esters from waste material after purification of tocopherols. *Lipids* 39(8): 784-794
- Nesaretnam, K., R. Ambra, K.R. Selvaduray, A. Radhakrishnan, K. Reimann, G. Razak, and F. Virgali. 2004. Tocotrienol-rich fraction from palm oil affects gene expression in tumor resulting from mcf-7 cell inoculation in athymic mice. *Lipids* 39: 459-467
- Ng, M. H., Y. M. Chao, A. H. Ma, C. H. Choah, and M. A. Hashim. 2004. Separation vitamin E (tocopherol, tocotrienol, and tocomonoenal) in palm oil. *Lipids* 39: 1031-1035
- Nielsen, M.M. and A. Hansen. 2008. Rapid high-performance liquid chromatography determination of tocopherols and tocotrienols in cereals. *Cereal Chemistry* 85(2): 248-251
- Park, S-R, Y-H Kim, H-J Park, and Y-S Lee. 2007. Stability of tocopherols and tocotrienols extracted from unsaponifiable fraction of rice bran under various temperature and oxygen condition. http://www.cropscience.org.au/icsc2004/-poster/5/1/1/654_park.htm. Tanggal akses 8 Maret 2007
- Pitoyo. 1991. Pemisahan Tokoferol dari Distilat Asam Lemak Minyak Sawit. Thesis. Program Pascasarjana - UGM, Yogyakarta
- Puah, C. W., Y. M. Choo, A. N. Ma, and C. H. Chuah. 2007. The effect of physical refining on palm vitamin E (tocopherol, tocotrienol and tocomonoenal). *American Journal of Applied Sciences* 4 (6): 374-377
- Vogel. 1978. Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik. Penerjemah: Pudjaatmaka dan Setiono. EGC, Jakarta
- Wali, V. B. and P. W. Sylvester. 2007. Synergistic antiproliferative effects of γ gamma tocotrienol and statin treatment on mammary tumor cell. *Lipids* 42(12): 1113-1123
- Wan, J., Ziang, W, and B. Jiang. 2008. Separation of individual tocopherol from soybean distillate by column chromatography. *J. of Am. Oil Chem. Soc.* 85: 331-338
- Watanabe, Y., T. Nagao, Y. Hirota, M. Kitano, and Y. Shimada. 2004. Purification of tocopherols and phytosterols by two-step in situ enzymatic reaction. *J. of Am. Oil Chem. Soc.* 81(4): 339-345