EKSTRAKSI DAN FRAKSINASI BETAKAROTEN DARI MINYAK SAWIT MENTAH UNTUK SUPLEMEN PRO VITAMIN A**(EXTRACTION AND FRACTIONATION OF β -CAROTEN FROM CRUDE PALM OIL FOR PRO VITAMIN A SUPPLEMENT)****Suroto Hadi Saputra**

Balai Riset dan Standardisasi Industri Samarinda
Jl. Harmonika No. 3 Telp. 0541 732274, Fax. 0541 745431
email : surotohs.65@gmail.com/roto_otor@yahoo.co.id

Naskah diterima 4 Juli 2013, disetujui 24 Oktober 2013

ABSTRAK

Minyak sawit mentah (MSM) atau *crude palm oil* mengandung karotenoid sekitar 500-700 ppm berupa α -, β -, γ - karoten dan likopen. Senyawa β -karoten bermanfaat untuk suplemen pro vitamin A dan senyawa ini dapat dipisahkan dari senyawa karotenoid lainnya di minyak sawit mentah dengan cara ekstraksi dan fraksinasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui komposisi pelarut terbaik dalam ekstraksi karotenoid dari minyak sawit mentah dan mengetahui jenis pelarut terbaik dalam fraksinasi β -karoten dari ekstrak karotenoid minyak sawit mentah. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi β -karoten adalah dietil eter-aseton dengan komposisi: 1:3 (A), 2:4 (B) dan 3:5 (C). Fraksinasi β -karoten dilakukan menggunakan kromatografi kolom dengan pelarut n-Hexan : butanol dan identifikasi β -karoten dilakukan dengan kromatografi lapis tipis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa komposisi pelarut 1:3 dapat menghasilkan rendemen β -karoten tertinggi yaitu sebesar 584.383. Fraksinasi β -karoten dari ekstrak karotenoid MSM berhasil dilakukan dengan komposisi pelarut n-hexan dan butanol (98,08:02). Analisis TLC menunjukkan keberadaan β -karoten dengan Rf 0,35.

Keywords : ekstraksi, fraksinasi, betakaroten, pro vitamin A

ABSTRACT

Crude palm oil contained carotenoids around 500-700 ppm form of α -, β -, γ -carotene and lycopene. Compound β -karoten beneficial to supplement pro vitamins A and this compound may be separated from karotenoid other in crude palm oil by means of extraction and fractionation. The purpose of this research is to know the composition of the solvent extraction of carotenoids in the best of crude palm oil and find out the type of solvent in oil β -carotene carotenoid extract from crude palm oil. A solvent used in extraction β -karoten is dietil eter-aseton with a composition: 1: 3 (A), 2: 4 (B) and 3: 5 (C). Fractionate β -karoten committed using column chromatography with a solvent n-hexan: butanol and identification β -karoten done with chromatography thin layers. The results showed that the solvent composition 1: 3 can yield the highest β -carotene which is equal to 584.383. Fractionate β -karoten of an extract carotenoid msm succeeded is conducted with a composition of a solvent n-hexan and butanol (98,08: 02). Analysis serious TLC indicating the existence of β -karoten with Rf 0,35.

Keywords : extraction, fractionation, β -carotene, pro vitamine A.

PENDAHULUAN

Minyak Sawit Mentah (CPO) biasanya diproses untuk menghasilkan minyak sawit merah atau minyak sawit murni (*bleached cooking oil*) atau detergen. Selama proses pengolahan ini, karoten sering mengalami kerusakan tetapi masih dapat diisolasi dan bertahan dalam minyak dengan konsentrasi lebih dari 30% (Mortensen, 2005).

Volume ekspor minyak sawit mentah (*Crude Palm Oil*) diperkirakan akan meningkat sekitar 6,3% pada tahun 2012. Hal tersebut dipaparkan Oil World yang dikutip oleh PT Astra Agro Lestari Tbk (AALI) dalam investor buletin. Oil World memperkirakan volume ekspor CPO Indonesia akan mencapai sebesar 18,15 juta ton. Kenaikan ekspor tersebut, dalam analisisnya, sebagai dampak dari kenaikan produksi CPO yang perkiraannya akan tumbuh sebesar 6,2% (Hatta, 2012).

Karoten merupakan jenis karotenoid yang memiliki atom oksigen pada struktur kimianya, misalnya α -karoten, β -karoten, γ -karoten, likopen, dan sebagainya. β -karoten merupakan salah satu jenis karotenoid yang merupakan pro-vitamin A yang dibutuhkan sebagai komponen gizi untuk tubuh. Karotenoid dapat ditemukan dari berbagai jenis alga, tumbuhan, hewan dan fungi (Briton dkk, 2004).

Betakaroten dapat mengurangi atherosclerosis dalam arteri (Bonnie & Choo, 2000), mengurangi resiko penyakit jantung (Food and Nutrition Board, 2000), berpotensi menjaga kesehatan mata dan asupan yang direkomendasikan 2,5-5,9 mg/hari (Food and Nutrition Board, 2000) dalam Tim Advokasi Sawit Indonesia, 2010.

Minyak sawit mentah merupakan minyak nabati dengan kandungan karotenoid (pro-vitamin A) yang sangat tinggi. Di beberapa kebun swasta dan PTPN dijumpai tanaman kelapa sawit yang menghasilkan betakaroten (pro-vitamin A) 4.000 ppm. Kandungan vitamin A (ekivalen retinol) dalam minyak sawit

mentah jauh lebih tinggi dibandingkan dengan wortel sebesar 400 μg ekivalen retinol/100 g dan jenis lainnya jeruk 21 μg ekivalen retinol/100 g, pisang 50 μg ekivalen retinol/100 g, minyak sawit merah (refined) 5000 μg ekivalen retinol/100 g dan minyak sawit mentah (CPO) 6700 μg ekivalen retinol/100 g. (Tim Advokasi Sawit Indonesia, 2010)

Ada dua golongan vitamin A pada bahan pangan yaitu preform retinol sebagai retinyl esters dan provitamin A karotenoid. Provitamin A Karotenoid adalah karotenoid yang memiliki aktivitas vitamin A. Terdapat lebih dari 600 macam karotenoid, tetapi yang memiliki aktivitas provitamin A hanya 10% (betakaroten, α karoten dan γ karoten). Tiga macam provitamin A karotenoid yang utama adalah beta karoten yang mengandung dua molekul retinol yang berikatan, α karotene dan beta-cryptoxanthin yang mengandung satu molekul retinol yang berikatan dengan retinoid tanpa aktivitas vitamin A (Hess, SY, et al, 2005). Provitamin A dapat dirubah menjadi vitamin A (retinol) dalam tubuh.

Manfaat betakaroten bagi kesehatan antara lain untuk pembentukan vitamin A. Karena ber peran sebagai pro-vitamin A, senyawa antikanker dan antioksidan yang sangat aktif. Defisiensi vitamin A akan berpengaruh terhadap sintesis protein sehingga juga mempengaruhi pertumbuhan sel. Oleh karena itu anak yang menderita defisiensi vitamin A akan mengalami kegagalan pertumbuhan. (Almatsier, 2005). Upaya-upaya untuk memperoleh senyawa betakaroten terus diupayakan dengan berbagai macam metode pemisahan.

Metode ekstraksi maserasi merupakan teknik ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam sampel dalam pelarut selama waktu tertentu. Metode ini merupakan metode yang sederhana dan tidak merusak senyawa yang tidak tahan panas. Sedangkan metode fraksinasi merupakan teknik fraksinasi yang

dilakukan dengan cara melewatkan sampel dalam absorben tertentu. Jenis yang biasa digunakan antara lain dietil eter, dietil atau petroleum eter, acetone, hexan, butanol dan metanol.

Sejauh ini komposisi pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dan fraksinasi α -karoten belum banyak diketahui atau dilaporkan. Upaya untuk memperoleh senyawa α -karoten ini terus dilakukan dengan berbagai metode pemisahan, salah satu metode yang digunakan adalah metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut (Lenfant *et al*, 1996).

Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi pelarut terbaik dalam ekstraksi karotenoid dari minyak sawit mentah dan mengetahui jenis pelarut terbaik dalam fraksinasi α -karoten dari ekstrak karotenoid minyak sawit mentah. dengan menggunakan kolom kromatografi.

METODOLOGI

Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain minyak sawit mentah (*Crude Palm Oil*), Aceton, Dietil Eter, Butil Hidroksi Toluene (BHT), Kalium Hidroksida, Etanol, Magnesium Oksida, Natrium Sulfat Anhidrat, Standard Betakaroten, *n*-Hexana, Butanol dan plat silica gel.

Alat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini antara lain vakum rotari evaporator, saker, kolom kromatografi, spektrofotometer, timbangan analitik dan lampu ultra violet dan *Thin Layer Chromatography* (TLC)

Penjumpatan Karotenoid dari Minyak Sawit Mentah

Minyak sawit mentah sebanyak 10 g dimasukan ke dalam labu erlenmyer, kemudian ditambahkan larutan kalium hidroksida di dalam etanol 25 ml. Campuran diaduk selama 2 jam pada suhu kamar. Larutan butil hidroksi toluene 0,01% sebanyak 25 ml ditambahkan ke

dalam labu tersebut dan diaduk selama 30 menit pada suhu kamar. Lapisan cairan yang terbentuk pada bagian atas dipindahkan ke bejana lain.

Ekstraksi Karotenoid

Terhadap lapisan padatan dilakukan lagi ekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol sampai tiga kali. Pelarut yang digunakan divariasikan yaitu antara dietil eter dan acetone pada perbandingan dietil eter : acetone (A=1:3), dietil eter : acetone (B=2:4), dietil eter : acetone (C=3:5). Filtrat yang diperoleh di simpan di dalam lemari es selama 1 malam.

Padatan putih kuning yang terbentuk dipisahkan dan terhadap filtratnya yang berwarna jingga di tambah natrium sulfat anhidrat sampai bebas air. Kemudian filtrat ini dipekatkan dengan menggunakan vakum rotari evaporator.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial. Perlakuan dilakukan pengulangan 2 (dua) kali. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan dianalisis dengan analisis sidik ragam. Bila berpengaruh nyata dilanjutkan dengan analisis beda nyata terkecil.

Kadar Pelarut

Kadar pelarut yang tersisa dalam ekstrak pekat karotenoid dilalukan analisa dengan menggunakan Gas Ckromatography Mass Spectrocophys. (GC-MS).

Pemurnian Betakaroten

Campuran magnesium oksida yang sudah dikeringkan pada suhu 50°C selama 2 jam, dibuat bubur dengan me nambahkan pelarut *n* - Hexan : Butanol (98,8:0,2). Bubur ini dimasukan secara hati-hati ke dalam kolom dengan diameter 1,3 cm dan dibiarkan selama satu malam. Kemudian natrium sulfat anhidrat dimasukan ke dalam kolom tersebut.

Sampel karotenoid hasil pemisahan di atas dimasukan ke dalam kolom kromatografi, kemudian dielusi dengan eluen Hexan:Butanol (98,8:0,2) dan butyl

hidroksil toluene 0,01 %. Eluat yang diperoleh ditampung setiap 3 ml dan fraksi-fraksi ini diuji dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan eluen benzene 10% di dalam dietil eter. Fraksi-fraksi yang mempunyai nilai R_f yang sama dengan β -karoten standar dikelompokkan untuk identifikasi lebih lanjut.

Identifikasi Betakaroten

Identifikasi betakaroten hasil pemisahan dengan kromatografi kolom dilakukan dengan cara membandingkan nilai R_f , spectrum ultra violet, dan infra

merah dengan betakaroten standar. Untuk menentukan kemurnian dari betakaroten dilakukan dengan cara spektroskopi ultra violet, yaitu dengan membuat kurva kalibrasi dari betakaroten standar pada panjang gelombang 450,1 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Betakaroten Minyak Sawit Mentah

Hasil analisa kadar betakaroten awal dan betakaroten akhir setelah diekstraksi menggunakan berbagai macam pelarut, dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisa betakaroten ekstrak minyak sawit mentah (MSM) menggunakan campuran beberapa pelarut.

NO	PELARUT	BETA KAROTEN AWAL (ppm)	BETA KAROTEN AKHIR (ppm)
1	Dietil Eter : <i>n</i> - Heksan (1:3)	446,26	440,54
2	Petroleum Benzene : Aseton (1:3)	412,3	487,91
3	Dietil Eter : Aseton (1 : 3)	447,30	703,7

Hasil analisa pada tabel 1, menunjukkan penggunaan campuran pelarut dietil eter dan aseton merupakan pelarut yang terbaik untuk mengekstrak betakaroten dari Minyak Sawit Mentah (MSM). Jika dilihat dari konsentrasi betakaroten akhir yang diperoleh yang memiliki nilai beta karoten akhir terbesar 703,7 ppm, sedangkan penggunaan pelarut dietil eter - *n* heksan sebesar 440,54 ppm dan pelarut petroleum benzene - aseton sebesar 487,91 ppm.

Menurut Susilawati *et al.*, (2012) betakaroten bersifat non polar dan tidak larut dalam air. Berdasarkan sifat non-polar dari betakaroten, maka untuk meningkatkan jumlah beta karoten terekstrak perlu dilarutkan pada bahan yang memiliki sifat polaritas yang sama dengan betakaroten. Dilihat dari nilai konstanta dielektrik aseton (20,700), dietil eter (4,340), *n*-heksan (1,890), pada campuran pelarut dietil eter dan aseton (1:3) mampu melarutkan betakaroten.

Ekstraksi Karotenoid

Berdasarkan hasil penggunaan pelarut yang terbaik untuk mengekstraksi betakaroten, selanjutnya dilakukan pula optimalisasi ekstraksi betakaroten dengan memvariasikan ratio perbandingan pelarut yang terbaik (dietil eter : aseton). Hasil analisa kadar betakaroten pada ratio perbandingan dietil eter dan aseton yang berbeda seperti terlihat pada Gambar 1. Pada gambar 1 terlihat pada ratio perbandingan dietil eter : aseton (1:3) merupakan ratio perbandingan pelarut yang terbaik untuk mengekstraksi betakaroten. Berdasarkan hasil analisis sidik ragam menunjukkan ratio (1:3) berbeda nyata dengan dua ratio pelarut lainnya. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh ratio perbandingan pelarut yang digunakan terhadap hasil ekstraksi yang diperoleh.

Pada ratio perbandingan pelarut dietil eter :aseton (1 :3) dapat

mengekstraksi betakaroten paling banyak yaitu 584,38 ppm.

Gambar 1. Kadar betakaroten pada ratio perbandingan dietil eter :aseton yang berbeda

Kadar Sisa Pelarut Ekstrak Minyak Sawit Mentah (MSM)

Pada penelitian ini dilakukan pula uji kadar sisa pelarut ekstrak minyak sawit mentah (MSM) seperti disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Sisa Kadar Pelarut Ekstrak Minyak sawit Mentah (MSM)

Param eter	Satu an	Sisa Kadar Pelarut (dietil eter : aseton)			Metode Uji
		A (1:3)	B (2:4)	C (3:5)	
Dietil eter	%	0,06	0,04	0,09	Gas Chroma tography
Aceton	%	0,63	0,51	0,68	
Alkohol	%	-	-	-	

Pada tabel 2, dapat terlihat pada semua rasio perbandingan pelarut, masih terdapat sisa pelarut dietil eter dan aseton. Masih terdapatnya kadar pelarut dietil eter dan aceton bila dibandingkan dengan alkohol pada ekstrak minyak sawit mentah diduga karena waktu yang digunakan dalam proses evaporasi kurang lama, sehingga dietil eter dan aceton belum menguap seluruhnya. Faktor-faktor yang mempengaruhi proses terjadinya penguapan zat pelarut diantaranya adalah

jenis pelarut, suhu, waktu dan kecepatan rotavapor.

Menurut Guenther, (1987) pelarut adalah benda cair atau gas yang dapat melarutkan benda padat, cair, atau gas menghasilkan larutan. Pelarut paling umum digunakan dalam kehidupan sehari-hari adalah air. Pelarut lain yang juga umum digunakan adalah pelarut organik (mengandung karbon). Pelarut biasanya memiliki titik didih rendah dan lebih mudah menguap, meninggalkan substansi terlarut yang didapatkan. Untuk membedakan antara pelarut dengan zat yang dilarutkan, pelarut biasanya terdapat dalam jumlah yang lebih besar.

Perbandingan titik uap ketiga pelarut adalah titik uap dietil eter 35°C < aseton 56°C < alkohol 79°C . Titik uap cukup rendah, diharapkan pelarut mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu tinggi, namun titik uap pelarut tidak boleh terlalu rendah karena akan mengakibatkan kehilangan akibat penguapan.

Pemurnian Betakaroten

Hasil fraksinasi ekstrak betakaroten dari minyak sawit mentah (MSM) dengan cara kolom kromatografi sebagaimana tercantum pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Fraksinasi Minyak Sawit Mentah (MSM)

Sampel	Jumlah eluat	Jumlah Spot (KLT)
A (1:3)	1-10	1
	11-17	1
B (2:4)	1-10	1
	11-17	1
	18-24	1
C (3:5)	1-5	1
	6-10	1
	11-15	1
	16-23	1

Berdasarkan tabel 3 diperoleh warna dalam proses fraksinasi adalah mulai warna kuning hingga dan kuning (Gambar 1-3) dimana jumlah eluatnya berbeda-beda namun mempunyai jumlah spot satu (Tabel 3). Perbedaan jumlah

eluat yang dihasilkan dipengaruhi oleh tingkat kecepatan kelarutan ekstrak minyak sawit mentah terhadap lajunya alir yang melalui kolom kromatografi dan banyaknya zat yang tergolong empiris dalam ekstrak. Bila memperhatikan warna eluat hasil dari fraksinasi berwarna kuning jingga-kuning hal ini menunjukkan bahwa warna ini sesuai dengan ciri betakaroten.

Karakteristik warna kuning-orang minyak sawit disebabkan karena kelimpahan karotenoid (500-700 mg/L). Alpha dan β -karoten merupakan komponen terbesar sedangkan γ -carotene, lycopene dan xanthophylls berada dalam jumlah yang kecil. Alpha dan β -karoten merupakan komponen terbesar sedangkan γ -carotene, lycopene dan xanthophylls berada dalam jumlah yang kecil. Minyak sawit berwarna kuning orange merah, tergantung pada jumlah karotenoid yang ada, tingkat oksidasi oleh lipooxygenase pada buah yang rusak pada saat penyimpanan sebelum proses dan oksidasi karena adanya katalis besi selama proses ekstraksi (Kheiri, SA, 1987 dan Cottrell, 1991 dalam Edem, 2002).

Gambar 1. Sampel A

Gambar 2. Sampel B

Gambar 3 Sampel C

Identifikasi Betakaroten Terisolasi

Berdasarkan hasil analisa fraksi betakaroten yang terisolasi dari masing-masing sampel sebagaimana pada tabel 3, menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) yang dibandingkan dengan standar betakaroten maka diperoleh gambaran yang memiliki kemiripan titik puncak dengan standar betakaroten dari gejala kedudukan kesejajaran fraksi yang terisolasi dari masing-masing sampel A, B, dan C bila dibandingkan dengan betakaroten standar maka berada pada fraksi 7- 15. Hal ini dapat diketahui dengan beberapa indikasi antara lain warna pada titik-titik puncak spot pada lempeng tipis berwarna kuning-jingga, nilai R_f 0,35. Untuk identifikasi pigmen karotenoid, baik jenis (alpha, beta dan gama) maupun kemurniannya dapat dilakukan dengan menggunakan teknik kromatografi lapis tipis.

Penentuan secara kromatografi lapis tipis didasarkan pada nilai R_f dan jumlah spot (Goodwin, 1976 dalam Christie, 1982). Setiap jenis karotenoid memiliki nilai R_f yang berbeda-beda, tergantung pada jenis eluen dan adsorben yang digunakan. Bentuk spektrum yang sama menyatakan suatu zat yang sama (Goodwin, 1976 dalam Sulaswatty, 2001).

KESIMPULAN DAN SARAN

Pelarut terbaik untuk ekstraksi karotenoid dari minyak sawit mentah adalah dietil eter dan acetone dengan perbandingan 1:3. Pekatan ekstrak karotenoid minyak sawit mentah dalam semua perlakuan setelah dilakukan evaporasi dengan menggunakan rotary evaporator masih terdapat pelarut dietil eter 0,04-0,09% dan asetone 0,51-0,68% sebagai zat pelarut. Jenis eluen terbaik untuk isolasi betakaroten dari ekstrak minyak sawit mentah adalah Hexan dan Butanol dengan perbandingan 99,8:0,2. Dalam melakukan evaporasi ekstrak minyak sawit mentah agar memperhatikan waktu yang digunakan untuk menguapkan

zat pelarut dietil eter dan aseton sehingga diperoleh pekatan ekstrak karotenoid bebas dari zat pelarut yang digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Almatsier S. 2005. Prinsip Dasar Ilmu Gizi. Gramedia. Jakarta.
- Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H., 2004. Carotenoids handbook. Birkhauser, Basel. Switzerland.
- Christie, W.W. 1982. Lipid Analisis 2nd ed. Pergamon Press. New York.
- Edem, DO., 2002. Palm Oil: Biochemical, Physiological, Nutritional, Hematological and Toxicological Aspects: A Review. Plants Foods for Human Nutrition. 57: 319-341
- Guenther E, 1987. Minyak atsiri. Diterjemahkan oleh R.S. Ketaren dan R Mulyono. Jakarta. UI Press.
- Hatta, A. 2012. Ekspor CPO Indonesia Naik 6,3%. <http://www.wartaekonomi.co.id/berita/4249/ekspor-cpo-indonesia-2012-diprediksi-naik-63.html>. Diakses tanggal 23 Nopember 2012.
- Hess, SY., Thurnham, DI., Hurrell, RF., 2005. Influence of Provitamin A Carotenoids on Iron, Zinc and Vitamin A Status. HarvestPlus.
- Lenfant, C and F.C. Thyron, C. 1996. Extraction of Carotenoids From Palm Oil. II. Isolation Methods. OCL.3(4):194-207.
- Mortensen A. 2005. Analysis of a Complex Mixture of Carotenes from Oil Palm (*Elaeis guineensis*) Fruit Extract. Food Research International 38: 847-853
- Sulaswatty A, 2001. Penggunaan Pelarut Teknis Pada Pemisahan Alpha dan Beta Karoten dari Pekatan Karotenoid Crude Olein. Prosiding Seminar Nasional XI Kimia dalam Industri dan Lingkungan. Jakarta.
- Susilawati, Nurdin, S.U. dan Fitriani, R.T., 2012. Pengaruh konsentrasi gum arab dan minyak kedelai terhadap konsentrasi betakaroten, stabilitas dan sifat organoleptik sari wortel (*Daucus carota* L.) http://www.iptek.net.id/ind/pustaka_pangan/pdf/prosiding/poster/PGB08_Susilawati-Lampung.pdf. (Di akses pada 20 Desember 2012).
- Tim Advokasi Sawit Indonesia. 2010. Fakta Kelapa Sawit Indonesia. Dewan Minyak Sawit Indonesia. Jakarta.