

Pengaruh Metode Nanoenkapsulasi terhadap Stabilitas Pigmen Karotenoid dan Umur Simpan Minyak dari Buah Merah (*Pandanus conoideus* L)

Influence of Nanoencapsulation Method on The Stability of Carotenoid Pigment and Shelf life of Red Fruit (*Pandanus conoideus* L) Oil

F. Ferdiansyah^{1*}, H. Heriyanto², Christofora Hanny Wijaya¹, Leenawaty Limantara^{2,3}

¹Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Jl. Raya Darmaga, Bogor 16002, Indonesia

²Ma Chung Research Center for Pigment Photosynthesis (MRCPP), Universitas Ma Chung, Jl. Villa Puncak Tidar N-01, Malang 65151, Indonesia

³Universitas Pembangunan Jaya, Jl. Cendrawasih Raya B7/P, Tangerang Selatan 15413, Indonesia
Email: ferdiitp@gmail.com

Submisi: 22 Oktober 2016; Penerimaan: 12 Juli 2017

ABSTRAK

Pemanfaatan minyak buah merah yang kaya akan pigmen karotenoid pada produk pangan masih terbatas karena sifatnya kurang larut dalam fase air dan memiliki stabilitas yang rendah. Nanoenkapsulasi diharapkan dapat memperbaiki kelarutan dalam air dan mempertahankan stabilitasnya. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh proses nanoenkapsulasi dalam mempertahankan stabilitas pigmen karotenoid minyak buah merah dari pengaruh perlakuan panas dan cahaya, serta memperkirakan umur simpan nanoenkapsulat. Proses nanoenkapsulasi menggunakan metode gelasi dengan kitosan sebagai bahan enkapsulat. Total karotenoid diukur menggunakan persamaan Gross, dan prediksi umur simpan menggunakan model Arrhenius. Ukuran partikel nanoenkapsulasi terbaik mencapai 70,48 nm dengan polidispersi indeks 0,02 dan zeta potensial 14,80 mV. Kriteria fisik nanoenkapsulasi ini didukung oleh hasil pengukuran morfologi menggunakan TEM. Stabilitas pigmen karotenoid pada nanoenkapsulasi dengan perlakuan cahaya (1700 lux, 12 jam), blansir (80 °C, 30 menit), pasteurisasi (90 °C, 20 menit), dan sterilisasi (121 °C, 5 menit) lebih baik dibandingkan emulsi tanpa perlakuan dengan penurunan total karotenoid masing-masing perlakuan sebesar 6,92%; 13,51%; 17,77%; dan 20,49% pada nanoenkapsulasi, sedangkan pada emulsi mencapai 26,33%; 45,25%; 54,46%; dan 65,74%. Sampel nanoenkapsulasi pada suhu ruang (25 °C) memiliki umur simpan 5,2 bulan lebih lama dibandingkan sampel emulsi yang hanya mencapai 0,5 bulan. Metode nanoenkapsulasi dapat mempertahankan stabilitas pigmen karotenoid dan meningkatkan umur simpan minyak buah merah.

Kata kunci: Pigmen karotenoid; nanoenkapsulasi; minyak buah merah; stabilitas; umur simpan

ABSTRACT

The utilization of carotenoid rich red fruit oil for food product development is still limited due to has low solubility in aqueous phase and unstable. Nanoencapsulation was proposed to improve the solubility as well as to retain the stability. This study aimed to determine the capability of nanoencapsulation process in maintaining the stability of carotenoid towards heat and light treatments and to estimate the shelf life of the encapsulant. Ionic gelation method was applied in the nanoencapsulation process using chitosan as a coating agent. Total carotenoid was calculated using Gross equation, while the estimation of shelf life of the product was predicted using Arrhenius model. Particle size of the best nanoencapsulation sample was 70.48 nm with a polydisperse index of 0.02 and zeta potential of 14.80 mV. These

physical properties of nanoencapsulant agreed with the results of morphological measurement by TEM. The stability of carotenoid pigment in nanoencapsulant throughout several treatments, such as light (1700 lux, 12 hours), blanching (80 °C, 30 minutes), pasteurization (90 °C, 20 minutes), and sterilization (121 °C, 5 minutes) was higher compared to the stability of emulsion without treatment. The decreasing of total carotenoid in nanoencapsulant for each treatment was 6.92%; 13.51%; 17.77%; and 20.49%, while the reduction in emulsion was 26.33%; 45.25%; 54.46%; and 65.74%, respectively. Nanoencapsulation sample at room temperature (25 °C) has a shelf life of 5.2 months which was longer than the emulsion sample (0.5 months). Nanoencapsulation showed better protection on the stability of carotenoid pigment and increased the shelf life of red fruit oil.

Keywords: Carotenoid pigment; nanoencapsulation; red fruit oil; shelf life; stability

PENDAHULUAN

Buah merah merupakan tanaman asli dari Papua yang digunakan oleh masyarakat sebagai sumber pewarna alami, obat-obatan, dan bahan makanan (Limbongan dan Malik, 2009). Berdasarkan hasil penelitian oleh Sarungallo dkk. (2015), buah merah dari sembilan varietas memiliki kandungan total karotenoid berkisar antara 3027–19959 µg/g. Nilai tersebut tergolong tinggi jika dibandingkan dengan beberapa sumber karotenoid lainnya seperti wortel 160–548 µg/g (Ikawati, 2005), minyak sawit 352–536 µg/g (Syahputra dkk., 2007), dan labu 60–740 µg/g (Murkovic dkk., 2002). Pemanfaatan minyak buah merah dalam pangan masih terbatas karena sifatnya kurang larut dalam air sehingga untuk meningkatkan pemanfaatannya dibuat dalam bentuk emulsi. Bentuk emulsi masih menjadi kendala terutama pada kestabilan pigmen karotenoid yang umumnya dipengaruhi oleh oksidasi, panas, dan cahaya (Dimara dkk., 2008).

Nanoenkapsulasi merupakan salah satu cara untuk mempertahankan kestabilan suatu senyawa melalui proses penyalutan dalam bentuk nano partikel (Mohanraj dan Chen, 2006). Nanoenkapsulasi dalam pangan dapat meningkatkan rasa, tekstur, absorpsitas, mempertahankan warna, serta bioavailabilitas komponen dan meningkatkan umur simpan (Greiner, 2009). Kitosan sebagai salah satu bahan penyalut dalam proses nanoenkapsulasi bersifat tidak beracun, aman dalam produk pangan, serta mudah untuk dipreparasi menjadi bentuk nanopartikel (Parize dkk., 2008). Pembuatan nanoenkapsulat dapat dilakukan salah satunya melalui gelasi ionik menggunakan kitosan dan *sodium tripolyphosphate* (STPP) yang membentuk lapisan pelindung, kemudian direduksi ukuran partikelnya membentuk nano kitosan (Afandi, 2014). Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh proses nanoenkapsulasi dalam mempertahankan stabilitas pigmen karotenoid minyak buah merah dari pengaruh perlakuan panas dan cahaya, serta umur simpannya.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam pembuatan sampel meliputi *spinbar* 4 cm (Scienceware, Jerman), *blender* tangan (Philips, Indonesia), sonikator (Memmert, Jerman), gelas kimia (Iwaki, Jerman), dan timbangan analitik (Kern, Jerman).

Bahan baku yang digunakan dalam pembuatan sampel yaitu minyak buah merah (CV. Made Mulya Asih Papua, Indonesia), kitosan (Sigma Aldrich, Jerman), tween 80, STPP, asam asetat 95%, dan akuades (PT. Setiaguna, Indonesia). Bahan analisis yang digunakan yaitu tetrahidrofuran (THF) 99,8%; aseton 99,8%; dan heksana 99,0% dengan grade analisis (Merck, Jerman).

Preparasi dan Karakterisasi Nanoenkapsulasi Minyak Buah Merah

Pembuatan nanoenkapsulasi minyak buah merah

Nanoenkapsulasi minyak buah merah dibuat berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Afandi (2014) dan Hosseini dkk. (2013) yang telah mengalami modifikasi menggunakan lima variasi antara konsentrasi minyak buah merah (%) dan konsentrasi kitosan (%) sebagai berikut: (1) 10:1, (2) 7,5:0,75, (3) 5:0,75, (4) 5:0,5, dan (5) 2,5:0,625. Pada tahap awal, minyak buah merah dibuat dalam bentuk emulsi induk menggunakan 2,5% Tween 80 yang dilarutkan dalam akuades (30 °C) pada kecepatan 1000 rpm selama 60 menit. Larutan enkapsulat dibuat dengan melarutkan kitosan dalam larutan asam asetat 1%, kemudian dihomogenisasi dengan larutan 0,5% STPP dalam akuades dengan rasio perbandingan 70:30 pada kecepatan 1000 rpm selama 60 menit.

Tahap akhir dimulai dari proses homogenisasi larutan emulsi induk ke dalam larutan enkapsulat dengan rasio 50:50 pada kecepatan 1000 rpm selama 90 menit. Larutan direduksi ukuran partikelnya pada kecepatan 10000 rpm selama 90 menit, kemudian disonikasi pada amplitudo 30 mV selama 60 menit dan disimpan pada suhu rendah (4–5 °C). Larutan emulsi kontrol dibuat dari larutan emulsi induk yang diencerkan menggunakan akuades dengan rasio perbandingan

50:50 pada kecepatan 1000 rpm selama 60 menit, kemudian disonikasi pada amplitudo 30 mV selama 60 menit dan disimpan pada suhu rendah (4–5 °C).

Analisis ukuran partikel, nilai polidispersi indeks, dan nilai zeta potensial

Ukuran partikel (nm), nilai polidispersi indeks dan nilai zeta potensial (mV) diukur menggunakan NanoQ Zetasizer (Malvern Instrument Ltd, Inggris) pada sampel nanoenkapsulasi, sedangkan sampel emulsi hanya diukur nilai zeta potensialnya. Pengukuran ukuran partikel menggunakan *Dynamic Light Scattering* (DLS) dalam bentuk *Zaverage* (Malvern, 2008).

Analisis morfologi nanoenkapsulasi minyak buah merah

Sampel nanoenkapsulasi sebanyak 1 mL diencerkan sebanyak 50 kali dalam tabung reaksi, kemudian sampel diteteskan pada greed tembaga (400 mesh), setelah meresap dan kering kemudian dilapisi dengan karbon films. Pengamatan morfologi sampel menggunakan *Transmission Electron Microscop* (TEM) (Tecnai™ G² Spirit t120 kV FEI company, Amerika) pada perbesaran 76000× hingga 136000×.

Stabilitas dan Umur Simpan Emulsi dan Nanoenkapsulasi Minyak Buah Merah

Uji stabilitas pigmen karotenoid terhadap perlakuan panas dan cahaya

Perlakuan panas, yaitu blansir (80 °C, 30 menit), pasteurisasi (90 °C, 20 menit), dan sterilisasi (121 °C, 5 menit), serta paparan cahaya digunakan dalam uji stabilitas pigmen karotenoid. Pada perlakuan panas, sampel (25 g) dimasukkan dalam tabung reaksi sedang, sedangkan perlakuan cahaya menggunakan botol sampel bening. Perlakuan blansir dan pasteurisasi menggunakan media air panas dalam alat *waterbath* (Mettler, Jerman), sedangkan sterilisasi menggunakan uap panas dalam alat *autoclave* (GEA/SMIC LSB75L, Jerman). Perlakuan cahaya menggunakan cahaya polikromatik 1700 lux yang setara dengan lampu TL Philips 50 watt dengan jarak paparan cahaya 1,5 m (12 jam, 25 °C). Parameter yang digunakan dalam uji stabilitas pigmen karotenoid adalah perubahan spektra serapan dan penurunan total karotenoid yang dianalisis menggunakan SPSS 20 pada taraf signifikan (p) 0,05.

Pengukuran spektra serapan dan total karotenoid

Spektra serapan ekstrak pigmen karotenoid dari sampel digunakan dalam perhitungan total karotenoid berdasarkan persamaan Gross (1991). Sampel (1 g) diekstraksi menggunakan 2 mL THF dan 1 mL heksana, kemudian

didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atas yang mengandung pigmen karotenoid dipisahkan, kemudian dikeringkan menggunakan gas N₂. Ekstrak pigmen kering dilarutkan dalam 2 mL heksana, kemudian diukur spektra serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Tampak (Multispec-1501, Shimadzu, Jepang) dalam 2 mm kuvet kuarsa pada rentang panjang gelombang (λ) 300 sampai 600 nm. Nilai absorbansi pada λ_{maks} digunakan dalam perhitungan total karotenoid. Selain itu, spektra serapan dari sampel nanoenkapsulasi dan emulsi diukur langsung menggunakan alat spektrofotometer yang sama pada λ 300-800 nm.

Umur simpan emulsi dan nanoenkapsulat

Sampel (25 g) dalam botol gelap disimpan pada tiga kondisi suhu akselerasi yaitu 35 °C, 45 °C, dan 55 °C dalam alat *climate chamber* (Mettler, Jerman). Pengamatan selama penyimpanan dilakukan setiap dua jam sekali untuk sampel emulsi, sedangkan sampel nanoenkapsulasi setiap dua hari sekali. Parameter pengamatan yang digunakan selama penyimpanan adalah total karotenoid sebagai mutu paling sensitif (Ramadhyastarsi dan Purwiyatno, 2014). Batasan penerimaan yaitu 50% penurunan dari mutu awal yang mengindikasikan pada kondisi tersebut produk sudah mencapai batas penerimaan (Indrawati dkk., 2015).

Persamaan kinetika reaksi selama penyimpanan menggunakan total karotenoid dan waktu pengamatan sebagai atribut x dan y secara berturut-turut dalam penentuan umur simpan sampel. Persamaan kinetika reaksi menggunakan dua orde reaksi yaitu orde reaksi 0 dan orde reaksi 1, kemudian penentuan persamaan terbaik berdasarkan nilai korelasi data (R^2) yang paling tinggi (Haryati dkk., 2015) dari dua orde reaksi tersebut. Slope data penurunan (K) dari persamaan kinetika reaksi pada masing-masing suhu penyimpanan terbaik dijadikan sebagai atribut y dan satu per suhu penyimpanan dalam bentuk Kelvin sebagai atribut x pada persamaan Arrhenius ($\ln K_t = \ln K_0 - E_a/R \cdot 1/T$). Umur simpan ditentukan setelah mendapatkan nilai K (koefisien penurunan) pada suhu penyimpanan yang diinginkan yaitu pada suhu ruang 25 °C (Tensiska dkk., 2012) dengan menggunakan rumus $t = ([A]_0 - [A]_t) / K$ untuk orde reaksi 0, sedangkan orde reaksi 1 yaitu $t = (\ln([A]_0/[A]_t)) / K$ (Labuza dan Schmidl, 1985).

HASIL DAN PEMBAHASAN

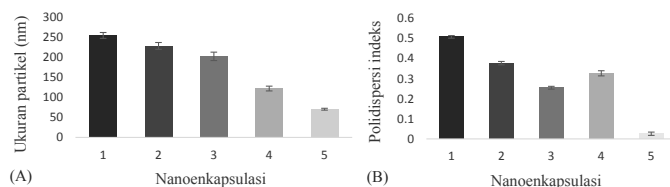
Karakterisasi Nanoenkapsulasi Minyak Buah Merah

Karakterisasi nanoenkapsulasi minyak buah merah dapat ditentukan berdasarkan ukuran partikel, polidispersi indeks, zeta potensial dan morfologi partikel. Ukuran partikel dan nilai polidispersi indeks sampel nanoenkapsulasi dari

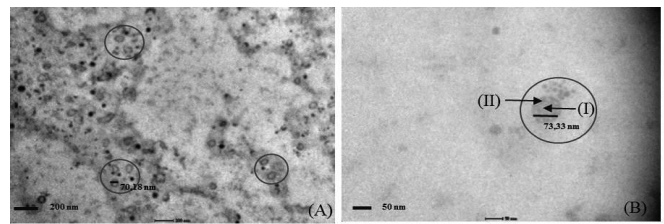
lima variasi konsentrasi disajikan pada Gambar 1. Sampel nanoenkapsulasi pada variasi ke-1 sampai ke-4 memiliki ukuran partikel lebih besar dari 100 nm, yaitu 259,92 sampai 119,14 nm, sedangkan sampel pada variasi ke-5 menunjukkan ukuran partikel paling kecil yang termasuk dalam ukuran nano (70,48 nm). Reis dkk. (2006) menyatakan bahwa ukuran nano merupakan ukuran suatu komponen yang berada pada interval 1-100 nm.

Polidispersi indeks merupakan suatu kondisi pada distribusi partikel yang menggambarkan tingkat keseragaman ukuran partikel pada suatu komponen (Luo dkk., 2013). Semakin kecil nilai polidispersi indeks maka distribusi partikel dalam suatu komponen memiliki tingkat keseragaman ukuran yang seragam (Luo dkk., 2013). Wu dkk. (2012) menyatakan bahwa nano partikel memiliki batasan penerimaan nilai polidispersi indeks kurang dari 0,25. Pada sampel variasi ke-5 memiliki polidispersi indeks sebesar 0,02, sedangkan untuk variasi lainnya memiliki nilai yang lebih tinggi dari 0,25. Nilai polidispersi indeks lebih besar dari 0,25 maka suatu komponen memiliki keseragaman ukuran partikel yang kurang baik (Afandi, 2014). Berdasarkan pada ukuran partikel dan polidispersi indeks maka perlakuan terbaik dalam proses nanoenkapsulasi terdapat pada perlakuan variasi kelima dengan ukuran partikel sebesar 70,48 nm dan polidispersi indeks sebesar 0,02. Hasil ini menunjukkan bahwa sampel telah mencapai nano partikel dan memiliki keseragaman ukuran partikel yang baik.

Zeta potensial merupakan muatan partikel yang terdapat pada permukaan suatu sistem koloid. Zeta potensial semakin tinggi menyebabkan peluang untuk terjadinya interaksi antara partikel satu dengan lainnya atau terjadinya penggabungan partikel dari kecil menjadi besar (flokulasi) semakin kecil (Luo dkk., 2013). Nilai zeta potensial yang diperoleh pada perlakuan terbaik (variasi ke-5) mencapai $\pm 14,80$ mV yang lebih tinggi dibandingkan dengan sampel emulsi sebagai kontrol sebesar $\pm 7,24$ mV. Hasil tersebut menunjukkan nilai zeta potensial pada nanoenkapsulasi lebih tinggi sehingga untuk terjadinya flokulasi lebih rendah dibandingkan pada emulsi yang memungkinkan terbentuk flokulasi lebih besar.



Gambar 1. Ukuran partikel (nm) (A) dan nilai polidispersi indeks (B) sampel nanoenkapsulasi pada variasi perlakuan 1 % kitosan: 10 % minyak (■), 0,75 % kitosan: 7,5 % minyak (■), 0,75 % kitosan : 5 % minyak (■), 0,5 % kitosan: 5 % minyak (■), dan 0,625 % kitosan: 2,5 % minyak (■).



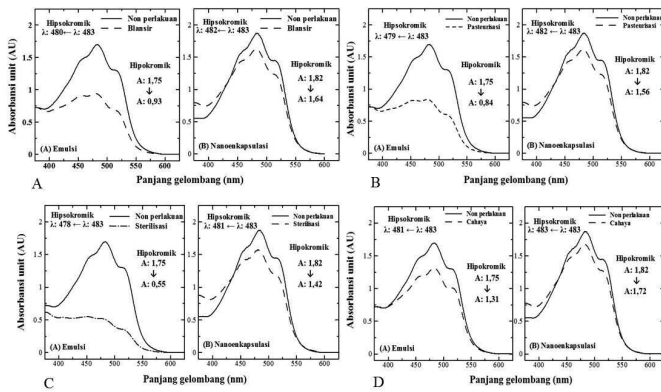
Gambar 2. Morfologi nanoenkapsulasi pada skala perbesaran 85000 \times (A), dan 136000 \times (B). Simbol lingkaran menggambarkan pada kondisi enkapsulasi dari emulsi minyak buah merah yang terdiri dari lapisan transparan merupakan emulsi minyak buah merah (I) dan lapisan gelap yaitu kitosan-STPP sebagai bahan enkapsulat (II)

untuk memperkuat hasil karakterisasi fisik dari sampel nanoenkapsulasi. Morfologi nanoenkapsulasi minyak buah merah pada perlakuan terbaik dengan perbesaran 85000 \times (Gambar 2A) memperlihatkan bulatan kecil yang tersebar merata. Hasil ini membuktikan bahwa distribusi partikel pada sampel nanoenkapsulasi memiliki keseragaman ukuran yang baik dan tidak saling bersatu membentuk flokulasi. Bentuk partikel tunggal dari sampel nanoenkapsulasi terlihat jelas pada perbesaran 136000 \times dengan ukuran partikel mencapai $\pm 73,33$ nm (Gambar 2B). Ukuran partikel ini membuktikan bahwa sampel nanoenkapsulasi sudah mencapai ukuran nano dan juga memperkuat penentuan ukuran partikel berdasarkan hasil pengukuran menggunakan NanoQ Zetasizer.

Bentuk morfologi nanoenkapsulasi pada perbesaran 85000 \times dan 136000 \times umumnya bulat tidak beraturan (*spherical*) (Perdana dkk., 2011). Bentuk bulatan dari hasil pengamatan terdiri dari dua lapisan yaitu lapisan berwarna transparan dan lapisan berwarna gelap. Lapisan transparan terlihat dibagian tengah dari bentuk morfologi yang merupakan citraan dari emulsi minyak buah merah sebagai bentuk dari lapisan internal, sedangkan lapisan gelap terlihat dibagian luar yaitu lapisan enkapsulat yang menyelubungi lapisan transparan sebagai bentuk dari lapisan eksternal. Lapisan gelap pada nanoenkapsulasi memiliki area yang lebih besar dibandingkan lapisan transparan yang membuktikan emulsi minyak buah merah terenkapsulasi dalam larutan enkapsulat.

Stabilitas Pigmen Karotenoid Emulsi dan Nanoenkapsulasi

Stabilitas pigmen karotenoid dari sampel emulsi dan nanoenkapsulasi minyak buah merah terhadap perlakuan panas dan cahaya dapat diamati berdasarkan tampilan visualnya. Secara visual larutan emulsi dan nanoenkapsulasi awal memiliki warna oranye, namun warna kedua larutan tersebut menjadi pudar setelah perlakuan, dimana sampel emulsi memiliki warna yang lebih muda jika dibandingkan dengan sampel nanoenkapsulasi. Perubahan warna larutan dari sampel emulsi dan nanoenkapsulasi dianalisa lebih lanjut



Gambar 3. Spektra serapan pigmen karotenoid pada kondisi sebelum perlakuan (-) dan setelah perlakuan (--) emulsi dan nanoenkapsulasi pada perlakuan blansir (A), pasteurisasi (B), sterilisasi (C), dan cahaya (D)

berdasarkan data spektra serapannya. Spektra serapan dari sampel emulsi dan nanoenkapsulasi sebelum dan serta setelah perlakuan disajikan pada Gambar 3, sedangkan sifat spektra serapan, yaitu panjang gelombang serapan maksimum (λ_{mak}) dan absorbansi pada λ_{mak} , serta total karotenoid dan prosentase penurunan dari total karotenoid dirangkum pada Tabel 1.

Spektra serapan sampel emulsi dan nanoenkapsulasi minyak buah merah menunjukkan ciri khas dari spektrum serapan karotenoid dengan λ_{mak} 483 nm. Pengaruh panas dan cahaya menyebabkan λ_{mak} dari spektra serapan sampel emulsi mengalami pergeseran ke arah kiri (hipsokromik) sebesar 2 - 5 nm dengan struktur halus karotenoidnya menjadi tidak nyata, sedangkan untuk sampel nanoenkapsulasi mengalami

Tabel 1. Total karotenoid [mg/100g] dan persentase penurunan [%] sampel emulsi dan nanoenkapsulasi sebelum dan setelah perlakuan

Sampel	Perlakuan	Total karotenoid [mg/100g]	Persentase penurunan [%]*
Emulsi	Awal	4,21 ± 0,01	
	Blansir	2,31 ± 0,01	45,25 ^a ± 0,15
	Pasteurisasi	1,92 ± 0,01	54,46 ^a ± 0,16
	Sterilisasi	1,44 ± 0,02	65,74 ^a ± 0,54
	Cahaya	3,10 ± 0,01	26,33 ^a ± 0,32
	Nanoenkapsulasi	Awal	4,47 ± 0,01
Blansir		3,86 ± 0,01	13,51 ^b ± 0,30
Pasteurisasi		3,68 ± 0,01	17,77 ^b ± 0,24
Sterilisasi		3,55 ± 0,01	20,49 ^b ± 0,17
Cahaya		4,16 ± 0,01	6,92 ^b ± 0,17

Keterangan: simbol (*) persentase penurunan dihitung dari penurunan total karotenoid sampel sebelum dan setelah perlakuan. Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata pada taraf signifikansi 0,05 begitu juga sebaliknya pada prosentase penurunan total karotenoid dari masing-masing perlakuan antara sampel emulsi dan nanoenkapsulasi.

pergeseran ke arah yang sama yaitu sebesar 0 - 2 nm dengan sedikit perubahan struktur halus karotenoid. Pergeseran hipsokromik dan perubahan struktur halus karotenoid juga diikuti oleh penurunan absorbansi (hipsokromik) yang menunjukkan bahwa telah terjadi isomerisasi yaitu konversi karotenoid dari bentuk isomer *all trans* menjadi bentuk isomer *cis* (Britton dkk., 1995) dengan adanya perlakuan panas dan cahaya (Heriyanto dkk., 2011). Selain proses isomerisasi yang menyebabkan degradasi karotenoid, fotooksigenasi berperan dalam terbentuknya senyawa endoperoxida dari karotenoid yang ditandai dengan penurunan absorbansi dan munculnya serapan baru (Fiedor dkk., 2005).

Kestabilan pigmen karotenoid dapat ditentukan juga dari besarnya penurunan absorbansi atau total karotenoid pada sampel emulsi dan nanoenkapsulasi yang diberi perlakuan blansir, pasteurisasi, sterilisasi, dan cahaya. Penurunan total karotenoid pada sampel nanoenkapsulasi dari pengaruh perlakuan tersebut secara berturut-turut mencapai 13,51%; 17,77%; 20,49%; dan 6,92% lebih rendah dibandingkan dengan sampel emulsi yang mencapai 45,25%; 54,46%; 65,74%; dan 26,33% (Tabel 1). Penurunan tersebut berbeda nyata pada taraf signifikansi 0,05 antara sampel emulsi dan nanoenkapsulasi dari setiap masing-masing perlakuan. Hasil tersebut membuktikan bahwa kestabilan pigmen karotenoid dalam bentuk nanoenkapsulasi lebih baik dibandingkan emulsi. Kitosan sebagai bahan penyalut memiliki karakteristik yang mudah untuk berikatan dengan komponen serta memiliki ketahanan yang baik terhadap suhu tinggi. Selain itu, interaksi gelasi ionik antara gugus fungsi kitosan dengan STPP membuat terbentuknya lapisan pelindung yang kuat untuk melindungi komponen sehingga stabilitas komponen menjadi lebih baik (Diab dkk., 2013). Reduksi ukuran partikel menjadi bentuk nano menyebabkan proses penyalutan komponen pigmen karotenoid menjadi lebih baik karena karakteristik kitosan sebagai bahan penyalut lebih mudah untuk berikatan dengan komponen dalam bentuk nano partikel (Grenha, 2012), sehingga degradasi pigmen karotenoid lebih rendah selama perlakuan panas dan cahaya. Nanoenkapsulasi dalam pangan merupakan inovasi teknologi yang dapat meningkatkan kestabilan komponen dari pengaruh pH, oksidasi, cahaya, dan pemanasan tanpa mempengaruhi pada penerimaan, rasa, penampilan produk serta lebih stabil selama penyimpanan dengan membentuk lapisan multi layer pada komponen sehingga komponen yang tersalut menjadi lebih stabil (John, 2014).

Umur Simpan Emulsi dan Nanoenkapsulasi Minyak Buah Merah

Umur simpan sampel emulsi dan nanoenkapsulasi ditentukan berdasarkan prediksi model Arrhenius. Perubahan total karotenoid sebagai mutu parameter digunakan untuk

Tabel 2. Kinetika reaksi orde 0 sampel emulsi dan nanoenkapsulasi

Mutu (α)	Suhu ($^{\circ}$ K)	Persamaan reaksi		Korelasi (R^2)	
		Emulsi	Nano enkapsulasi	Emulsi	Nano enkapsulasi
Total karotenoid	308	$\alpha = -6,6691t + 1049,2$	$\alpha = -12,355t + 1110,4$	0,9718	0,9735
	318	$\alpha = -22,108t + 1031,1$	$\alpha = -44,341t + 1211,4$	0,9288	0,9250
	328	$\alpha = -38,842t + 1034,2$	$\alpha = -65,468t + 1187,5$	0,9676	0,9792

Keterangan: atribut y sebagai total karotenoid (α) dan atribut x sebagai waktu pengamatan (t).

Tabel 3. Kinetika reaksi orde 1 sampel emulsi dan nanoenkapsulasi

Mutu (ln α)	Suhu ($^{\circ}$ K)	Persamaan reaksi		Korelasi (R^2)	
		Emulsi	Nano enkapsulasi	Emulsi	Nano enkapsulasi
Total karotenoid	308	$\ln \alpha = -0,0066t + 6,956$	$\ln \alpha = -0,0118t + 7,0637$	0,9745	0,9810
	318	$\ln \alpha = -0,0239t + 6,9401$	$\ln \alpha = -0,0443t + 7,0928$	0,9448	0,9738
	328	$\ln \alpha = -0,0549t + 6,9322$	$\ln \alpha = -0,0832t + 7,1236$	0,9882	0,9831

Keterangan: atribut y sebagai hasil perhitungan logaritmik total karotenoid (ln α) dan atribut x sebagai waktu pengamatan (t).

setiap waktu pengamatan penyimpanan pada masing-masing suhu akselerasi, kemudian dibuat dalam persamaan kinetika reaksi ($y = a + bx$) mengikuti orde reaksi 0 dan orde reaksi 1.

Persamaan kinetika reaksi yang diperoleh pada Tabel 2 dan 3 menunjukkan nilai korelasi data (R^2) paling tinggi terdapat pada persamaan orde reaksi 1 baik pada emulsi maupun nanoenkapsulasi, sehingga persamaan orde reaksi 1 digunakan sebagai atribut dalam persamaan Arrhenius (Tabel 4). Umur simpan sampel emulsi dan nanoenkapsulasi dari persamaan Arrhenius yang diperoleh ditentukan berdasarkan persamaan reaksi orde 1 menggunakan rumus $t = (\ln ([\alpha]_0 / [\alpha]_t)) / K$ (Labuza dan Schmidl, 1985). Hasil perhitungan umur simpan sampel emulsi dan nanoenkapsulasi dari persamaan Arrhenius pada suhu target (25 $^{\circ}$ C) disajikan pada Tabel 5.

Tabel 4. Persamaan Arrhenius sampel emulsi dan nanoenkapsulasi

Mutu	Persamaan Arrhenius		Korelasi (R^2)	
	Emulsi	Nano enkapsulasi	Emulsi	Nano enkapsulasi
Total karotenoid	$\ln K_t = -10743(1/T) + 29,818$	$\ln K_t = -9899(1/T) + 27,801$	0,9888	0,9666

Keterangan: atribut y sebagai slope penurunan (K) pada persamaan kinetika reaksi dari setiap suhu penyimpanan akselerasi dan atribut x sebagai satu per suhu penyimpanan akselerasi dalam derajat kelvin.

Tabel 5. Umur simpan sampel emulsi dan nanoenkapsulasi

Mutu awal		Mutu akhir*		t (hari)		t (bulan)	
Emulsi	Nano enkapsulasi	Emulsi	Nano enkapsulasi	Emulsi	Nano Enkapsulasi	Emulsi	Nano enkapsulasi
1057,17	1179,07	528,60	589,53	14,70	156,11	0,5	5,2

Keterangan: simbol (*) mutu total karotenoid (μ g/25 g) yang masih diterima separuh dari mutu awal.

Umur simpan emulsi pada suhu ruang (25 $^{\circ}$ C) mencapai 0,5 bulan lebih rendah dibandingkan nanoenkapsulasi yang memiliki umur simpan mencapai 5,2 bulan. Umur simpan pada nanoenkapsulasi minyak buah merah memiliki rentang waktu yang lebih lama yang membuktikan stabilitas pigmen karotenoid minyak buah merah dapat terjaga selama penyimpanan. Hal tersebut didukung oleh Lobato dkk. (2013) yang menyatakan bahwa proses nanoenkapsulasi pada ekstrak pigmen karotenoid dari selaput biji *annatto* dalam bentuk larutan suspensi dapat meningkatkan umur simpan produk mencapai 3,9 bulan lebih lama. Metode nanoenkapsulasi dari hasil penelitian ini dapat meningkatkan umur simpan sehingga stabilitas pigmen karotenoid minyak buah merah lebih terjaga.

KESIMPULAN

Karakterisasi nanoenkapsulasi minyak buah merah telah mencapai nanopartikel berdasarkan hasil uji ukuran partikel, polidispersi indeks, serta zeta potensial yang diperkuat dengan dukungan hasil analisis morfologi menggunakan TEM. Nanoenkapsulasi dapat meningkatkan stabilitas pigmen karotenoid minyak buah merah dari perlakuan panas (blansir, pasteurisasi, dan sterilisasi) dan cahaya serta memiliki umur simpan yang lebih lama pada suhu ruang (25 $^{\circ}$ C) dibandingkan emulsi. Metode nanoenkapsulasi dapat meningkatkan stabilitas pigmen karotenoid dan umur simpan minyak buah merah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih atas bantuan dan dukungan dari pihak Ma Chung Research Center for Photosynthetic Pigments (MRCPP), Universitas Ma Chung (Tatas H.P. Brotosudarmo, Renny Indrawati, Katarina Purnomo Salim, dan Amelia Myristi Lolita) dan Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (Balitbang) bagian National Nanotechnology Center (Nanotec), Cimanggu Bogor. Penelitian ini didukung oleh dana hibah Penelitian Unggulan Strategis Nasional (PUSNAS) No. 053/SP2H/P/K7/KM/2016 dan dana Hibah Kompetensi (HIKOM) No. 079/SP2H/LT/DRPM/II/2016.

DAFTAR PUSTAKA

Afandi, F.A. (2014). *Pengaruh Nanoenkapsulasi terhadap Mutu Sensori, Fisikokimia, dan Fisiologiaktif Minuman Fungsional Berbasis Kumis Kucing (Orthosiphon aristatus Bl. Miq)*. Tesis. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor, Indonesia.

- Britton, G.S., Liaaen, H.P. dan Fander (1995). Carotenoids vol 1b: Spectroscopy. Hal: 16. Birkhauser Verlag Boston - Berlin.
- Diab, M.A., Adel, Z.E., Mohamed, M. Al-Halawany, dan Dina. M.D.B. (2012). Thermal stability and degradation of chitosan modified by cinamic acid. *Open Journal of Polymer Chemistry* **2**: 14–20.
- Dimara, L., Ferdy, S.R. dan Leenawaty, L. (2008). Uji fisika kimia stabilitas pigmen karotenoid pada ekstrak kasar buah merah papua (*Pandanus conoideus* lam) potensi sebagai pewarna alami. Prodising Seminar Nasional Sains. Hal: 17 - 32. 1 November 2008. Bogor, Indonesia.
- Fiedor, J., Fiedor, L., Haessner, R. dan Scheer, H. (2005). Cyclic endoperoxides of β -carotene, potential pro-oxidants, as products of chemical quenching of singlet oxygen. *Biochimica et Biophysica Acta* **1709**: 1–4.
- Greiner, R. (2009). Current and projected applications of nanotechnology in the food sector. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr. J. Brazilian Soc. Food Nutr*, São Paulo. **34**: 243–260.
- Grenha, A. (2012). Chitosan nanoparticles: a survey of preparation methods. *Journal of Drug Targeting* **20**: 291–300.
- Gross, J. (1991). *Pigmen in Vegetables*. Hal: 100. Van Nastrand Reinhold, New York.
- Haryati, T.E., Feronika, H. dan Kgs. Ahmadi. (2015). Pendugaan umur simpan menggunakan metode Accelerated Shelf-life testing (ASLT) dengan pendekatan Arrhenius pada produk tape ketan hitam khas Mojokerto hasil sterilisasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* **3**: 156–165.
- Heriyanto, Brotosudarmo, T.H.P. dan Limantara, L. (2011). Spectral analysis in the absorption spectra of fucoxanthin: photo-stability and thermostability studies. *Proceeding of HK-ICONS*. Hal: 304 - 309. 09 - 11 Juli. Malang, Indonesia.
- Hosseini, S.F., Mojgan, Z., Masoud, R. dan Farhid, F. (2013). Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticle: preparation, characterization, and in vitro release study. *Carbohydrate Polymers* **95**: 50–56.
- Ikawati, R. (2005). Optimasi ekstraksi karotenoid wortel (*Daucus carota* L.) menggunakan response surface technology (RSM). *Jurnal Teknologi Pertanian* **1**: 14–22.
- Indrawati, R., Helen, S., Indriatmoko, Retno, D.E.W. dan Leenawaty, L. (2015). Encapsulation of brown seaweed pigment by freeze drying: characterization and its stability during storage. *Journal of Procedia Chemistry* **14**: 353–360.
- John, S. (2014). Nano (micro) encapsulation to protect bioactivity and enhance bioavailability of bioactive components. [<http://www.http://foodinnova.com>]. 10 Mei 2016.
- Labuza, T.P. dan Schmidl, M.K. (1985). Accelerated shelf life testing of food. *Journal Food Technology* **39**: 57–62.
- Limbongan, J. dan Afrizal, M. (2009). Peluang pengembangan buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk) di Provinsi Papua. *Jurnal Litbang Pertanian* **28**: 134–141.
- Lobato, K.B.S, Karina, P., Joana, C.F., Silvia, S.G., Andrea, J. dan Alessandro, O.R. (2013). Characterisation and stability evaluation of bixin carotenoid nanocapsules. *Journal Food Chemistry* **144**: 3906–3912.
- Luo, Y., Thomas, T.Y.W, Zi, T., Pei, C., Jianghao, S. dan Qin, W. (2013). Encapsulation of indole-3-carbonil and 3,3-diindolymethane in zein/carboxymethyl chitosan nanoparticles with controlled release property and improved stability. *Journal Food Chemistry* **139**: 224–230.
- Malvern (2008). A basic guide to particle characterization. Malvern instrument limited inform white paper. <http://www.malvern.com/pdf>. [14 Mei 2016].
- Mohanraj, V.J. dan Chen, Y. (2006). Nanoparticles a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research Article* **5**: 561–573.
- Murkovic, M., Mulleder, U. dan Neunteufl (2002). Carotenoid content in different varieties of pumpkins. *Journal of Food Composition and Analysis* **15**: 633–638.
- Parize, A.L., Tereza, C.R.S., Ines, M.C.B., Valfredo, T.F., Mauro, C.M.L., Adaiane, S., dan Elson, L. (2008). Microencapsulation of the natural urucum pigment with chitosan by spray drying in different solvents. *African Journal of Biotechnology* **7**: 3107–3114.
- Perdana, F.A., Malik, A.B. dan Mashuri, D. (2011). Sintesis nanopartikel Fe₂O₃ dengan template PED - 1000 dan karakterisasi sifat magnetiknya. *Jurnal Material dan Energi Indonesia* **1**: 17–23.
- Ramadhyastari, A. dan Purwiyanto, H. (2014). Carotene degradation kinetics of carotenoids rich fat powder made from red palm oil. *International Joint Seminar and Symposium Tri-University*. Hal: 1–4. 2–7 November 2014. Thailand.

- Reis, C.P., Ronald, J.N., Antonio, J.R., Francisco, V. (2006). Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine Journal* **2**: 8–21.
- Sarungallo, Z.L., Purwiyanto, H., Nuri, A., Eko, H.P. dan Mirshuro, W. (2015). Analysis of α -cryptoxanthin, β -cryptoxanthin, α -carotene, and β -carotene of *Pandanus conoideus* oil by high - performance liquid chromatography (HPLC). *Procedia Food Science* **3**: 231–243.
- Syahputra, M.R., Ferry, F.K. dan Leenawaty, L. (2008). Analisis komposisi dan kandungan karotenoid total dan vitamin A fraksi cair dan padat minyak sawit kasar (CPO) menggunakan KCKT detektor PDA. *Jurnal Nature Indonesia* **10**: 89–97.
- Tensiska, Nurhadi, B. dan Isfron, A.F. (2012). Kestabilan warna kurkumin terenkapsulasi dari kunyit dalam minuman ringan dan jelly pada berbagai kondisi penyimpanan. *Jurnal Ilmu Hayati dan Fisik* **14**: 196–208.
- Wu, Y., Yaguang, L. dan Qin, W. (2012). Antioxidant and antimicrobial properties of essential oils encapsulated in zein nanoparticles prepared by liquid-liquid dispersion method. *Journal Food Science and Technology* **48**: 283–290.