

**METODE PURIFIKASI VITAMIN E DARI MINYAK KELAPA SAWIT**

Sabrina Aprilisa Martha,<sup>1</sup> Ferry F. Karwur,<sup>2</sup> Ferdy S. Rondonuwu<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Magister Biologi Universitas Kristen Satya Wacana

Jl. Diponegoro 52-60, Salatiga – Jawa Tengah

E-mail: sabrinamartha@ymail.com

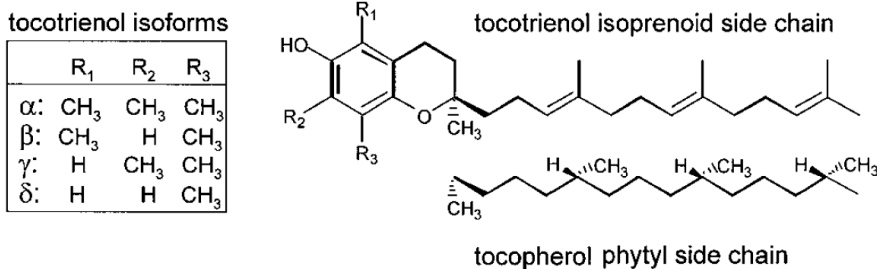
**ABSTRAK**

Sejak tahun 2009, Indonesia merupakan produsen terbesar dan eksportir minyak kelapa sawit di pasar dunia. Produksi minyak kelapa sawit Indonesia meningkat secara signifikan. Pada tahun 2012, Indonesia memproduksi 26,5 juta ton minyak sawit. Potensi hayati dari minyak sawit tersebut sangat tinggi karena kandungan vitamin E (tokotrienol dan tokoferol) mencapai 600-1.000 ppm. Untuk memurnikannya, tersedia beberapa metode, bergantung tujuan (analitis/preparatif untuk mengisolasi tokoferol/tokotrienol) dan kandungan komponen kimiawi (asam lemak, sterol, pigmen). Pembahasan mengenai metode pemurnian vitamin E minyak sawit tersebut masih sangat terbatas. Kajian ilmiah ini bertujuan menganalisis tingkat efektifitas, efisiensi, kelebihan, dan kekurangan berbagai metode separasi/pemisahan maupun pemurnian/purifikasi. Low temperature solvent crystallization dan supercritical fluid chromatography mampu menghasilkan ekstrak vitamin E konsentrasi tinggi, tetapi sangat dipengaruhi rasio pelarut dan materi tak tersaponifikasi, biaya mahal, resiko tinggi, dan peralatan khusus. Prosedur lain yaitu Thin Layer, Column, dan Gas Chromatography (pemisahan-identifikasi), High-Performance Liquid Chromatograph/HPLC (kombinatoris: pemisahan-identifikasi-purifikasi). Karena penerapannya lebih mudah, HPLC merupakan teknik yang lebih sering digunakan. Teknik HPLC menyajikan reproduktifitas yang baik, kolom sangat stabil, kuantitas reagen minimal, tidak toksik bagi teknisi dan lingkungan, dan dapat memisahkan isomer  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  tokoferol maupun tokotrienol.

**Kata Kunci:** Minyak Kelapa Sawit, Vitamin E, Purifikasi

**PENDAHULUAN**

Vitamin E merupakan suatu zat senyawa kompleks yang memiliki fungsi sebagai antioksidan yang melindungi membran sel dari kerusakan oksidatif. Vitamin E juga berperan dalam tubuh untuk memproses glukosa, mengurangi peradangan, regulasi sel darah, pertumbuhan jaringan ikat, dan kontrol genetik dari pembelahan sel. Vitamin E alami meliputi 8 isomer yang berbeda, yaitu:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - dan  $\delta$ -tokoferol serta tokotrienol. Tokoferol memiliki rantai cabang fitil pada inti kromanol, sedangkan ekor tokotrienol bersifat tak jenuh dan membentuk rantai isoprenoid (Gambar1).



Gambar 1. Struktur Molekuler Stereoisomer Vitamin E. Isomer  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - dan  $\delta$ - memiliki pola metilasi yang berbeda (Sumber: Świglo *et al.*, 2007)

Produk tumbuhan kaya lemak (minyak nabati) misalnya kelapa sawit, beras katul, benih gandum merupakan sumber utama vitamin E (Tabel 1). Rasio tokotrienol : tokoferol pada minyak sawit yaitu 7:3. Sumber lain meliputi minyak zaitun, sereal, bunga matahari, dan kacang hanya mengandung tokoferol.

Tabel 1. Kandungan Vitamin E (mg per 100 g produk) (Sumber: Cho *et al.*, 2009)

Sumber	Tokotrienol				Tokoferol
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$	$\alpha$
Kelapa sawit	14.6	3.2	29.7	8.0	15.0
Beras katul	23.6	NA	34.9	-	32.4
Benih gandum	2.6	18.1	TA	TA	133.0
Kelapa	0.5	0.1	-	-	0.5
Kedelai	0.2	0.1	0	0	7.5
Zaitun	0	0	0	0	11.9

TA, tidak dianalisis

Sejak tahun 2009, Indonesia merupakan produsen dan eksportir minyak kelapa sawit terbesar di dunia. Produksi minyak kelapa sawit di Indonesia meningkat secara tajam setiap tahun, misalnya tahun 2012 Indonesia memproduksi 26,5 juta ton. Minyak sawit kasar yang diekstrak dari buah kelapa sawit *Elaeis guineensis* memiliki kandungan tinggi Vitamin E sampai 600-1000 ppm. Dengan demikian, secara agregat, Indonesia memiliki potensi hasil vitamin E sangat tinggi. Kajian ilmiah ini membahas teknik separasi dan purifikasi digunakan untuk mendapatkan vitamin E dengan kemurnian yang tinggi, yang dapat menjadi potensi untuk pengembangan produk pangan tinggi vitamin E.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Vitamin E pertama kali ditemukan (dalam bentuk  $\alpha$ -tokoferol) pada tahun 1922 oleh Herbert Evans, sebagai nutrisi vital yang berperan dalam absorpsi nutrisi pada janin. Seiring dengan penemuan tersebut, bentuk lain dari tokoferol pun ditemukan, hingga ditemukan pula tokotrienol. Vitamin E sebagai kompleks gabungan dari tokoferol dan tokotrienol, memerlukan proses pemisahan untuk mendapatkan komponen murni. Aplikasi teknik separasi dan purifikasi tersebut akan dibahas dalam kajian ilmiah ini, mulai dari langkah paling sederhana hingga yang paling kompleks.

### 1. Saponifikasi, Kromatografi Kolom, dan Kromatografi Lapis Tipis (*Thin Layer Chromatography/TLC*) sebagai Teknik Separasi Vitamin E

Saponifikasi berfungsi memisahkan komponen tersaponifikasi (gliserol, asam lemak) yang dapat mempengaruhi determinasi vitamin E. Saponifikasi menggunakan potasium hidrat untuk mencegah oksidasi. Komponen tak tersaponifikasi, yaitu vitamin E, diekstraksi menggunakan pelarut organik (heksan, aseton, dietil eter). Kondisi optimal saponifikasi ialah 70°C selama 15 menit. Suhu yang lebih tinggi akan menghancurkan isomer vitamin E, sedangkan waktu yang terlalu singkat menyebabkan penurunan tingkat regenerasi dari isomer. Metode lain, yaitu kolom kromatografi, dapat membagi ekstrak vitamin E dalam beberapa fraksi melalui *Solid-liquid* (adsorpsi), *liquid-liquid* (partisi), dan kromatografi pertukaran ion. Elusi dari isomer yang diinginkan didapatkan melalui perbedaan polaritas pada fase gerak. Kolom silika memberikan pemisahan secara efektif dan resolusi lebih baik dibandingkan kolom amino. Kolom yang tinggi memberikan resolusi yang baik, sedangkan kolom berdiameter besar meningkatkan kapasitas sampel. Kolom ideal memiliki diameter <5 cm dan tinggi <45 cm. Selain kromatografi kolom, TLC merupakan metode analisis dan fraksinasi vitamin E, pengujian kemurnian, identifikasi, serta penilaian hasil ekstraksi. Komponen penting TLC yaitu fase stasioner, fase gerak, deteksi, dan kuantifikasi. Fase stasioner terdiri dari silika gel, fosfat magnesium sekunder, dan campuran silika gel/alumina dengan besi karbonat. Tokoferol bermigrasi sesuai tingkat kepolaran  $\alpha$ -T >  $\beta$ -T >  $\gamma$ -T >  $\delta$ -T. TLC menggunakan pelarut dengan titik didih, viskositas, dan toksisitas rendah. Permukaan TLC mengandung indikator *sodium fluorescein* dari vitamin E (spot gelap di bawah UV). Aktivasi adsorben dipengaruhi oleh waktu, temperatur, kondisi penyimpanan plate, dan kelembaban relatif. Penggunaan standar vitamin E dapat menjadi dasar untuk identifikasi komponen tokoferol dan tokotrienol.

### 2. Esterifikasi dan Distilasi Molekuler sebagai Metode Purifikasi Vitamin E yang Diterapkan di Industri



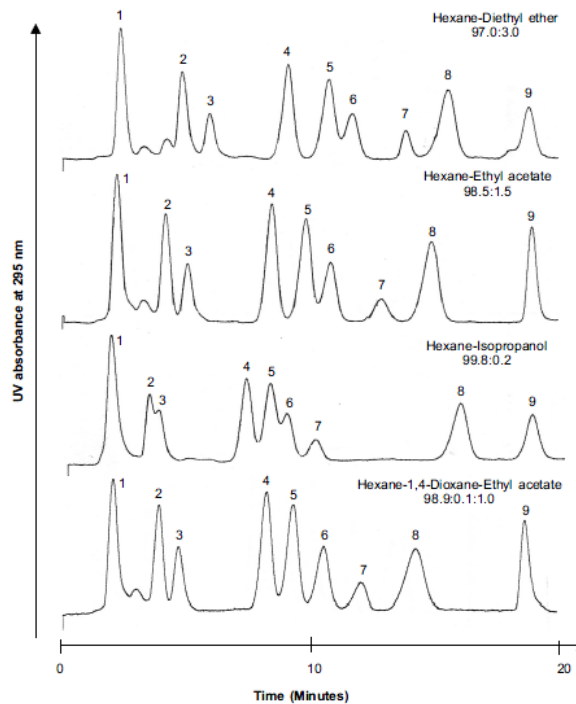
Distilasi molekuler merupakan salah satu metode distilasi untuk material yang sensitif terhadap suhu tinggi, misalnya minyak sawit. Minyak sawit dikonversi menjadi metil ester melalui esterifikasi. Esterifikasi dilakukan dengan bisulfat metal alkali padat, asam sulfat, enzim (*Candida rugosa*) sebagai alternatif katalisator, dan alkohol monohidrik (C1 sampai C8) untuk menghasilkan monoester. Langkah selanjutnya ialah meniadakan metil ester melalui distilasi vakum atau molekuler pada suhu 90-180°C untuk menghasilkan konsentrat vitamin E. Prinsip dasarnya ialah mengubah material menjadi fase uap, melewatkannya pada kolom pemisah, mengkondensasi, hingga tingkat kemurnian vitamin E mencapai 60-70%. Selanjutnya membilas, mengeringkan konsentrat, diikuti distilasi molekuler tahap kedua. Komponen vitamin E dipisahkan melalui TLC kemudian dilakukan kromatograf secara berulang sampai kemurniannya mencapai 90%. Konsentrat vitamin E dilarutkan dalam pelarut organik (diklorometan ataupun etanol), kemudian diproses ke dalam kolom silika gel (diameter 2 cm dan tinggi 25 cm).

### 3. HPLC (High Performance Liquid Chromatography) sebagai Metode Kombinatoris untuk Separasi dan Purifikasi Vitamin E

HPLC merupakan metode yang paling tepat untuk tujuan kuantifikasi dan karakterisasi vitamin E. HPLC memiliki tingkat efisiensi tinggi dalam adsorpsi, partisi, menggunakan sistem mikrosperikal untuk mengendalikan porositas dan tingkat hidrasi. Adsorben dikemas dalam kolom (panjang 10–30 cm, diameter 2–4 mm) dan pompa bertekanan tinggi untuk mendapatkan aliran pelarut yang adekuat dan konstan saat melewati kolom. Elusi pada kolom dilakukan secara isokratik dengan kombinasi pelarut. Sebelum HPLC dikenal, para peneliti menggunakan kromatografi gas atau *Gas Chromatography (GC)* untuk menganalisis vitamin E, namun sampel yang diuji harus melalui tahap saponifikasi sehingga lebih rumit, banyak waktu, dan meningkatnya resiko dekomposisi akibat suhu tinggi. Dibandingkan GC, proses analisis HPLC lebih cepat, sederhana, sensitif, selektif, vitamin E lebih stabil, mudah terlarut, dan menggunakan beberapa detektor. *Fluorescence detection (FLD)* dan *ultraviolet detection (UV)* merupakan detektor yang paling banyak digunakan untuk menganalisis vitamin E. Vitamin E menyerap sinar UV pada panjang gelombang 290-300 nm, namun absorbansi maksimal begitu kecil sehingga penyerapan UV hanya dapat digunakan untuk sampel yang memiliki kandungan tinggi tokoferol maupun tokotrienol seperti minyak nabati. FLD memiliki sensitifitas, selektifitas, dan spesifitas tinggi jika dibandingkan UV. HPLC FLD dapat mengidentifikasi konsentrasi komponen vitamin E secara individual dari *Crude Palm Oil (CPO)*, *Palm Phytonutrients Concentrate (PPC)*, dan *unsaponifiables of Palm Phytonutrients Concentrate (unsap PPC)*. Langkah analisis ini terdiri dari preparasi senyawa tak tersaponifikasi dari konsentrat fitonutrien kelapa sawit, kolom kromatografi terbuka (silika gel dan n-heksan serta etanol sebagai pelarut), kemudian isolasi vitamin E. Melalui semi-preparatif HPLC ini, konsentrasi komponen individual vitamin E dapat meningkat mencapai 94.6%.

Beberapa metode kromatografik HPLC telah berhasil menganalisis tokoferol dan tokotrienol secara independen pada kolom fase normal/*normal-phase (NP)* dan fase terbalik/*reversed-phase (RP)*. NP-HPLC digunakan ketika penelitian bertujuan memisahkan 8 tokokromanol. Sedangkan RP-HPLC digunakan saat menganalisis isomer tertentu, serta untuk memisahkan vitamin larut lemak dengan tokokromanol bebas maupun teresterifikasi. Pada NP-HPLC, vitamin E dilarutkan dalam pelarut organik non polar dan pemisahan melalui absorpsi berdasarkan cincin kromanol. Kepolaran isomer menurun dengan peningkatan jumlah grup metil. Selain itu, rantai cabang tak jenuh juga mempengaruhi polaritas, sehingga tokotrienol menjadi lebih polar dibandingkan tokoferol. Kolom NP lebih retentif terhadap isomer yang lebih polar. Fase silika murni dan kolomnya berbasis silika polar, seperti *amino-*, *cyano-*, *cyclodextrin-*, *diol-*, dan *nitro-bonded silica*. Berdasarkan kromatogram (Gambar 2), urutan elusi dari 8 isomer berdasarkan peningkatan polaritas yaitu  $\alpha\text{-T} \rightarrow \alpha\text{-T3} \rightarrow \beta\text{-T} \rightarrow \gamma\text{-T} \rightarrow \beta\text{-T3} \rightarrow \gamma\text{-T3} \rightarrow \delta\text{-T} \rightarrow \delta\text{-T3}$ . Isomer polaritas rendah terelusi dahulu, diikuti isomer dengan polaritas lebih tinggi.





Gambar 2. Pemisahan komponen tokoferol dan tokotrienol oleh NP-HPLC pada kolom silika *amino-bonded*. Puncak: 1 –  $\alpha$ -tokoferol asetat, 2 –  $\alpha$ - tokoferol, 3 –  $\alpha$ -tokotrienol, 4 –  $\beta$ - tokoferol, 5 –  $\gamma$ - tokoferol, 6 –  $\beta$ -tokotrienol, 7 –  $\gamma$ -tokotrienol, 8 –  $\delta$ - tokoferol, 9 –  $\delta$ -tokotrienol (Sumber: Sanagi *et al.*, 2006)

Keunggulan lain dari kolom NP pada pemisahan vitamin E meliputi: 1) kemampuan beroperasi dengan pelarut organik membuat kelarutan lebih tinggi untuk lemak; 2) toleran terhadap kadar lemak yang tinggi, sehingga memudahkan pencucian menggunakan pelarut non polar; 3) kemampuan selektifitas yang luas melalui inklusi modifikator yang berbeda pada fase gerak. Kelemahan metode NP-HPLC yaitu tidak dapat menganalisis subkomponen isomer geometris serta fase gerak *non-aqueous* tidak kompatibel dengan deteksi elektro-kimia. Keterbatasan ini dapat diatasi menggunakan teknik RP-HPLC. Kolom RP memiliki stabilitas dan sensitivitas tinggi, reproduktifitas waktu retensi, waktu analisis cepat, kemudahan pencapaian kesetimbangan pada fase gerak, kompatibel dengan deteksi elektro-kimia tinggi, serta sistem pelarut fase gerak (metanol, etanol) lebih ramah lingkungan, namun membutuhkan preparasi sampel untuk menghilangkan asam lemak dan mencegah kontaminasi kolom.

Resolusi lengkap dari 8 tokokromanol tidak dapat dicapai dengan menggunakan RP-HPLC kolom C18-bonded silika karena kolom tersebut tidak dapat memisahkan isomer  $\beta$ - dan  $\gamma$ -. Sedangkan kolom C30-bonded silika dan metanol sebagai fase gerak mampu memisahkan semua isomer tokoferol dan tokotrienol. Pemisahan isomer  $\beta$ - and  $\gamma$ - juga dapat dicapai dengan optimasi variabel HPLC yaitu komposisi pelarut, kecepatan aliran, dan efisiensi kolom, dengan menggunakan kolom RP berbasis silika non-konvensional, misalnya fase *pentafluorophenylsilica* (PFPS) atau *triacontylsilica* long-chain alkylsilika, dan *nonsilica-based octadecanoyl polyvinyl alcohol* (ODPVA). PFPS memiliki resolusi terbaik dan paling sesuai untuk analisis RP-HPLC karena memungkinkan analisis tokotrienol dengan deteksi elektro-kimia.

#### 4. Kristalisasi Pelarut pada Temperatur Rendah/*Low Temperature Solvent Crystallization*

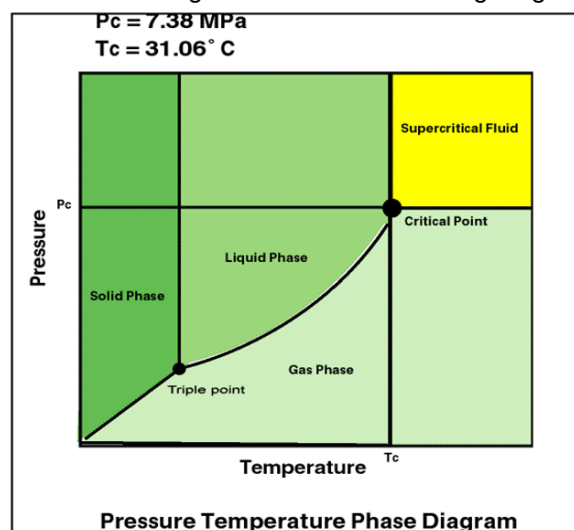
*Low temperature solvent crystallization* dapat meminimalisasi bahaya suhu tinggi pada proses analisis dan meningkatkan konsentrasi vitamin E secara signifikan, yaitu dari 3.50% pada fraksi tak tersaponifikasi menjadi 7.27%-21.45% pada fraksi kaya vitamin E. Konsentrasi ini didasarkan pada rasio pelarut dengan fraksi tak tersaponifikasi sebagai parameter yang mempengaruhi viskositas sistem serta perpindahan masa dan panas. Optimalisasi konsentrasi vitamin E tercapai jika rasio pelarut : fraksi tak tersaponifikasi ialah 6:1. Peningkatan rasio pelarut dan fraksi tak tersaponifikasi



menyebabkan penurunan konsentrasi vitamin E. Kristalisasi terdiri dari dua tahap: fase pemisahan (“penciptaan” kristal baru) disebut *nucleation*, serta fase pertumbuhan kristal menjadi ukuran yang lebih besar, disebut *crystal growth*. Pada kristalisasi temperatur tinggi, konsentrasi vitamin E menjadi rendah karena terdapat komponen yang tidak terkristalisasi sempurna dan masih berada dalam larutan. Pembentukan kristal terus berlanjut hingga mencapai tingkat kesetimbangan. Kristal akan terus berkembang selama sistem tidak mengalami *supersaturation* atau *supercooling*, dan molekul dalam sistem masih memiliki mobilitas tinggi untuk berpindah ke matriks kristal. Kondisi optimal kristalisasi yaitu pada kurun waktu 24.16 jam. Sebelum kristalisasi optimal tercapai, komponen yang tidak diinginkan dalam fraksi tak tersaponifikasi akan tetap berada pada larutan, menyebabkan rendahnya konsentrasi vitamin E. Peningkatan waktu kristalisasi setelah titik optimal tercapai juga menyebabkan penurunan konsentrasi vitamin E.

### 5. Ekstraksi Fluida Superkritis atau *Supercritical Fluid Extraction (SFE)*

Fluida superkritis adalah suatu zat menyerupai gas, yang dipanaskan di atas suhu kritis ( $T_c$ ) sekaligus tekanan kritis ( $P_c$ ). Suhu kritis adalah suhu tertinggi di mana gas dapat dikonversi menjadi cairan dengan peningkatan tekanan. Tekanan kritis adalah tekanan tertinggi di mana cairan dapat dikonversi menjadi gas oleh peningkatan suhu. Fluida superkritis dapat didefinisikan sebagai gas yang daya melarutkannya dapat dikontrol, di mana wujud cair dan gas dapat dibedakan. Pada diagram fase tekanan-suhu P-T (Gambar 3), kurva menggambarkan sublimasi, titik cair, dan kesetimbangan penguapan. Ketiga kurva berpotongan pada *triple point* (TP), di mana fase padat, cair, dan gas dalam kondisi setimbang dan berakhir pada *critical point* (CP). Di atas titik kritis, tidak ada proses pencairan pada peningkatan tekanan dan tidak ada gas terbentuk pada peningkatan suhu. Pada wilayah ini, tekanan dan suhu di atas  $P_c$  dan  $T_c$  disebut daerah superkritis (warna kuning).  $CO_2$  memiliki suhu kritis  $31.06^\circ C$  dan tekanan kritis 7.38 MPa. Jika  $CO_2$  dipanaskan di atas  $31.06^\circ C$  (melebihi titik kritis) maka tidak akan berubah menjadi cair, berapa pun tekanan yang diterapkan. Sedikit perubahan pada tekanan dan suhu di daerah superkritis mampu mengendalikan kepadatan, polaritas, viskositas, dan aspek lain dari fluida. Karakteristik ini memungkinkan ekstraksi berlangsung cepat.



Gambar 3. Diagram Fase Tekanan/Pressure-Temperature (P-T) dari  $CO_2$   
(Sumber: Yunus, 2007)

Instrumen SFE memanfaatkan  $CO_2$  pada tabung silinder, memanaskan dan menekan  $CO_2$  ke dalam tingkatan superfluida. Sampel ditempatkan dalam *cartridge* dan vitamin E minyak sawit diekstrak dalam waktu 30 menit. Beberapa instrumen SFE bekerja otomatis dengan ekstraktor berurutan, namun sebagian hanya dapat memproses sampel tunggal (2-9 sampel) secara paralel. SFE bersifat ramah lingkungan karena mengurangi penggunaan pelarut organik yang beracun dan mudah terbakar, serta meminimalisir waktu ekstraksi. Konsentrasi zat terlarut meningkat seiring peningkatan tekanan. Hal ini dikarenakan tekanan akan meningkatkan kepadatan dan daya kelarutan  $CO_2$  superkritis, sehingga memungkinkan  $CO_2$  untuk melarutkan lebih banyak zat terlarut.



## KESIMPULAN DAN SARAN

Berbagai metode untuk memurnikan vitamin E (tokoferol dan tokotrienol) telah berhasil diterapkan dan penggunaannya tergantung pada tujuan analisis dan jenis material sumber vitamin E. Beberapa penelitian bertujuan mendapatkan tokoferol dan tokotrienol murni, sedangkan penelitian lain, hanya bertujuan mendapatkan salah satu isomer vitamin E. Terlepas dari berbagai tujuan tersebut, langkah dasar purifikasi yang harus dilakukan ialah memecah struktur di mana vitamin E terikat (pada membran, lipoprotein, liposom) untuk menghilangkan pengaruh protein dan karbohidrat terlarut dalam fase organik, serta menciptakan medium dengan kelarutan tinggi vitamin E, sehingga bebas terelusi (menggunakan etanol atau metanol). Kristalisasi pelarut pada suhu rendah merupakan salah satu metode pemisahan yang meminimalkan kerusakan oleh suhu tinggi dan meningkatkan konsentrasi vitamin E secara signifikan, namun sangat tergantung pada rasio antara pelarut dan senyawa tak tersaponifikasi. Metode lain, kromatografi fluida superkritis, diterapkan berdasarkan fase gerak dalam keadaan superkritis. Metode ini juga menghasilkan kemurnian tinggi, namun biaya mahal dan berbahaya karena harus menggunakan peralatan khusus. Prosedur kromatografi lain yang sering digunakan untuk purifikasi di laboratorium ialah TLC, GC, HPLC. Di antara metode tersebut, teknik HPLC lebih sering digunakan karena penerapannya lebih mudah, dapat mengidentifikasi semua komponen tokoferol dan tokotrienol dengan detektor fluoresen fase normal dan fase terbalik. Hal ini memberikan reproduktifitas yang baik, pencapaian kesetimbangan yang lebih cepat, dan kolom sangat stabil.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Beasiswa Unggulan Kemendiknas RI

## DAFTAR PUSTAKA

- Abidi, S. L. (1999) Reversed-Phase Retention Characteristics of Tocotrienol Antioxidants. *J. Chromatogr. A*, 844, 67-75
- Abidi, S. L. and Mounts, T. L. (1996) Normal Phase High-Performance Liquid Chromatography of Tocopherols on Polar Phase 1. *Liq Chrom. & Rel. Technol.* 19(4),509-520
- Abidi, S. L. and Rennick, K.A. (2001) Capillary electrochromatographic evaluation of vitamin E-active oil constituents: tocopherols and tocotrienols. *Journal of Chromatography A*, 913, 379-386
- Abidi, S.L. (2000) Chromatographic analysis of tocol-derived lipid antioxidants. *J. Chromatogr. A*, 881, 197-216
- Abidi, S.L. and Mounts, T.L. (1997) Reversed-phase high performance liquid chromatographic separations of tocopherols. *J. Chromatogr. A*, 782, 25-32
- Ahmadi, K., Kumalaningsih, S., Wijana, S., and Santoso, I. (2012) Optimizing Vitamin E Purification from Unsaponifiable Matter of Palm Fatty Acids Distillate by Low Temperature Solvent Crystallization. *Journal of Food Science and Engineering 2*, 557-563
- Akoh, C. C. and Min, D. B. 2002. *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. Second Edition, Revised and Expanded. Marcel Dekker, Inc. New York, USA
- Amaral, J. S., Casal, S., Oliveira, B. P. P., Seabra, R. M. (2005) Development and Evaluation of a Normal Phase Liquid Chromatographic Method for the Determination of Tocopherols and Tocotrienols in Walnuts *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 28, 785-795
- Ambiyah, A. 2012. The Economic and Environmental Analysis of Palm Oil Expansion in Indonesia: Export Demand Approach and EIRSAM Model. Dissertation. Nagoya University.
- Basiron, Y. (2000) Palm oil beyond 2000. *Inform* 11, 30-33
- Bong, S. C. and Loh, S. P. (2013) A study of fatty acid composition and tocopherol content of lipid extracted from marine microalgae, *Nannochloropsis oculata* and *Tetraselmis suecica*, using solvent extraction and supercritical fluid extraction. *International Food Research Journal* 20(2), 721-729



- Chandrasekaram, K., Han, N. G., May, C. Y., and Hock, C. C. (2009) Concentration and Isolation of Individual Vitamin E Components in Palm Phytonutrients Concentrate using High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. *Journal of Oil Palm Research* 21, 621-626
- Cho, S., Falk, M., Fahey, G. C. (2009) *Generally Recognized As Safe (GUS) Determination for the Use of Palm Tocotrienol Rich Fractions (TRF) as Ingredients in Food*. Malaysian Palm Oil Board Washington, D.C.
- Correa, S., Busto, O., Guasch, J. (2006) Simultaneous quantification of phytosterols and tocopherols in almond oil by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Grup de Química Analítica Enològica i dels Aliments (Unitat d'Enologia del CeRTA) Spain*, pp. 1-36
- Eitenmiller, R. and Lee, J. (2004) *Vitamin E: Food Chemistry, Composition, and Analysis*. Marcel Dekker Inc. New York.
- FAS Statistics, "Oilseeds: Market and Trade": *World Major Vegetable Oils (Country View), December 2006 and January 2012* (<http://www.fas.usda.gov/oilseeds/circular/2006/06-12/oilseedsfull1206.pdf> and <http://www.fas.usda.gov/psdonline/circulars/oilseeds.pdf>). Accessed on January 17, 2012.
- Gast, K., M. Jungfer, C. Saure, G. Brunner (2003) Purification of Tocochromanols from Edible Oil. Technical University of Hamburg-Harburg Department of Thermal Separation Processes *Eissendorfer Strasse 38, 21071 Hamburg, Germany*
- Giacomelli, C., Giacomelli, F. C., Alves, L. O., Timbola, A. K., and Spinelli, A. (2004) Electrochemistry of Vitamin E Hydro-Alcoholic Solutions. *J. Braz. Chem. Soc.*, 15: 5, 748-755
- Gimeno, E., Castellote, A.I., Lamuela-Raventos, R.M., Torre, M.C., Lopez-Sabater, M.C. (2000) Rapid determination of vitamin E in vegetable oils by reversed-phase high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 881, 251-254
- Gunstone, F. D. and Herslöf, B. G. 2004. *Lipid Glossary 2* (Volume 12 in The Oily Press Lipid Library) The Oily Press Bridgewater
- Han, N. M., May, C. Y., Ngan, M. A., Hock, C. C., Hashim, M. A. (2004) Isolation of Palm Tocols Using Supercritical Fluid Chromatography. *Journal of Chromatographic Science* 42, 1-4
- Kamal-Eldin, A.; Goergen, S.; Pettersson, J.; Lampi, A. M. (2000) Normal phase high performance liquid chromatography of tocopherols and tocotrienols. Comparison of different chromatographic columns. *J. Chromatogr. A* 881, 217-227
- Lampi, A. M. (2011) *Selected Topics in the Analysis of Lipids: Analysis of Tocopherols and Tocotrienols by HPLC*. AOCS Department of Food and Environmental Sciences
- Leenheer, A. P. D., Lambert, W. E., and Bocxlaer, J. F. V. (2000) *Modern Chromatographic Analysis of Vitamins Third Edition*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- May, C. Y., Ngan, M. A., Basiron, Y. (2003) Method for The Chromatographic Isolation of Vitamin E Isomers. Malaysian Palm Oil Board. United States Patent No. US 6,656,358, 1-10
- May, C. Y., Ngan, M. A., Basiron, Y. (2001) Method for the chromatographic isolation of vitamin E isomers United States Patent Application Publication. Pub. No. US2001/004548, 1-5
- Montanari, L., King, J. W., List, G. R., and Rennick, K. A. (1996) Selective extraction of phospholipid mixture by supercritical CO<sub>2</sub> solvent. *J. Food Sci.* 61, 1230-1233
- Panfili, G., Fratianni, A., Irano, M. (2003) Normal Phase High-Performance Liquid Chromatography Method for the Determination of Tocopherols and Tocotrienols in Cereals. *J. Agric. Food Chem.* 51, 3940-3944
- Pocklington, W.D. and Dieffenbacher, A. (1988) Determination of Tocopherols and Tocotrienols in Vegetable Oils and Fats by High Performance Liquid Chromatography - Results of a collaborative study and the standardised method. *Pure Appl. Chem.* 60, 877-892
- Podda, M., Weber, C., Traber, M.G. and Packer, L. (1996) Simultaneous determination of tissue tocopherols, tocotrienols, ubiquinol, and ubiquinone. *J. Lipid Res.* 37, 893-901.
- Renzi, M., Righi, F., Quarantelli, C., Quarantelli, A., Bonomi, A. (2005) Simplified HPLC-UV method for the determination of  $\alpha$ -tocopherol in plasma *Ital. J. Anim. Sci.* 4, 191-195
- Sanagi, M. M., Heng, S. H., Ibrahim, W. A. W. (2006) Separation of Tocol-Derivates by Elevated Temperature Normal-Phase Liquid Chromatography. *J Technology*, 45, 29-40



- Świgło, A. G., Sikorska, E., Khmelinskii, I., Sikorski, M. (2007) Tocopherol Content in Edible Plant Oil. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 57 (4A), 157-161
- Tan, B. (2005) Appropriate Spectrum Vitamin E and New Perspectives on Desmethyl Tocopherols and Tocotrienols. *The Journal of the American Nutraceutical Association* 8,35-42
- Ubaldi A., Delbono G., Fusari A., Serventi P. (2005) Quick HPLC Method to Determine Vitamin E Concentration in Cow's Milk. *Ann. Fac. Medic. Vet. di Parma* 25, 101-110
- Wang, C., Ninga, J., Krishnana, P. G., and Mattheesb, D. P. (1998) Effects of Steeping Conditions During Wet-Milling on the Retentions of Tocopherols and Tocotrienols in Corn. *JAOCs* 75, (5) 887-893
- Watson, R. R. and Preedy, V. R. (2009) *Tocotrienols Vitamin E Beyond Tocopherols*. AOCS CRC Press. Taylor and Francis Group. New York
- Whittle K.J., Dunphy P.J., and Pennock J.F. (1966). The Isolation and Properties of  $\gamma$ -Tocotrienol from Hevea Latex. *J.Biochem* 100, 138-145
- Yacob, A. R., Bakar, N. A. A, and Said, N. (2012) Vitamin E Isomers from Latex Timber Clone Rubber Tree Characterized by Ultra Violet and High Performance Liquid Chromatography. *APCBEE Procedia* 4 228 – 234
- Yunus, M. A. (2007) *Extraction, Identification, and Separation of Vitamin E and Djenkolic Acid from Pithecellobium jiringan (Jack) Prain Seeds using Supercritical Carbon Dioxide*. Thesis of Doctor of Philosophy University Sains Malaysia.
- Zhao, B., Tham, S. Y., Lu, J., Lai, M. H., Lee, L. K. H., Mochhala, S. M. (2004). Simultaneous determination of vitamins C, E and  $\beta$ -carotene in human plasma by high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection. *J Pharm Pharmaceut Sci* 7 (2), 200-204
- Zhou, L. and Akoh, C.C. (2013) Identification of Tocopherols, Tocotrienols, and Their Fatty Acid Esters in Residues and Distillates of Structured Lipids Purified by Short-Path Distillation. *J. Agric. Food Chem.* 61, 238–246

## DISKUSI

### Penanya 1: Sri Ngabekti

#### Pertanyaan :

- Apakah ini merupakan kajian ilmiah?
- Dan apakah akan ditindaklanjuti dengan penelitian?

#### Jawab:

Ya, ini merupakan suatu kajian ilmiah yang menganalisis keefektifan, efisiensi, keuntungan, dan kerugian dari masing-masing metode separasi / purifikasi vitamin E. Kajian ilmiah ini menjadi dasar untuk penelitian selanjutnya, yaitu isolasi vitamin E murni dari minyak kelapa sawit, mengingat hasil kajian ilmiah ini menyimpulkan banyaknya manfaat hayati dari vitamin E. Dan metode yang paling efektif dan efisien yang dapat digunakan adalah metode HPLC.

