

Stability β -carotene encapsulated in plant-based emulsions: impact of nanocrystalline cellulose concentration

Ichlasia Ainul Fitri ^{1*}, Thunnalin Winuprasith ²

¹ Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Agroindustri,

Universitas Mercu Buana Yogyakarta, Jl. Wates KM 10 Yogyakarta, Indonesia

² Department of Food Science for Nutrition, Institute of Nutrition, Mahidol University, Nakhon Pathom, Thailand

*Correspondence author: ichlasia@mercubuana-yogya.ac.id

ABSTRACT. β -carotene has low stability thereby it must be incorporated into food product especially by emulsions system to encapsulate β -carotene. The influence of nanocrystalline cellulose (NCC) concentrations on stability of 10% of oil-in-water (O/W) emulsions containing β -carotene using tween 20 as an emulsifier was examined. The concentrations of NCC were varied at 0.05, 0.10, and 0.20% (w/w). There was a decrease in particle size (d_{43}) with increasing NCC concentration caused by rod like shape by native NCC. Addition NCC increased viscosity and ζ -potential thereby decreasing rate of creaming index by increasing NCC concentrations. Addition NCC decreased the value of L^* due to the white and turbid colour from native NCC but the differences between the emulsions containing NCC and control was not noticeable by visual observation. The stability of β -carotene increased with increasing NCC concentrations. It can be indicated, NCC can be used as natural stabilizer to increase emulsion and β -carotene stability especially at 0.20% (w/w) NCC. This experiment provides useful information for further applications especially CDS for bioactive compound.

Keywords: Emulsion, nanocrystalline cellulose (NCC), β -carotene

ABSTRAK. β -carotene memiliki stabilitas rendah selama pengolahan oleh sebab itu perlu diaplikasikan kedalam produk pangan seperti sistem emulsi untuk melindungi β -carotene. Pengaruh konsentrasi nanokristalin selulosa (NCC) terhadap stabilitas 10% emulsi minyak dalam air (O/W) yang mengandung β -carotene dengan tween 20 sebagai emulsifier dianalisis. Konsentrasi NCC divariasasi pada 0,05, 0,10, dan 0,20% (b/b). Terjadi penurunan ukuran partikel (d_{43}) dengan meningkatnya konsentrasi NCC yang disebabkan oleh bentuk asli NCC adalah seperti batang pendek dan kecil yang terdispersi sempurna kedalam sistem emulsi. Penambahan NCC meningkatkan viskositas dan ζ -potential dari emulsi sehingga menurunkan laju *creaming index* pada system emulsi. Penambahan NCC menurunkan nilai L^* karena warna putih dan keruh dari NCC asli tetapi perbedaan antara emulsi yang mengandung NCC dan kontrol tidak terlihat secara visual. Stabilitas β -carotene meningkat dengan meningkatnya konsentrasi NCC. Berdasarkan hasil pengamatan dapat diindikasikan bahwa NCC dapat digunakan sebagai stabiliser alami untuk meningkatkan stabilitas emulsi dan β -carotene terutama pada NCC konsentrasi 0,20% (b/b). Percobaan ini memberikan informasi yang berguna untuk aplikasi lebih lanjut terutama untuk enkapsulasi senyawa bioaktif.

Kata kunci: emulsi, nanokristalin selulosa (NCC), β -carotene



This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ©2022 by author.

1. PENDAHULUAN

β -carotene merupakan senyawa bioaktif dalam bentuk vitamin A yang dapat membantu menurunkan risiko penyakit kronis seperti diabetes, kanker, jantung, dll (Johnson, 2002). β -carotene memiliki faktor konversi 12:1 dimana 12 β -carotene diubah menjadi 1 vitamin A (Abdel *et al.*, 2006). Akan tetapi, β -carotene merupakan komponen hidrofobik sehingga memiliki kelarutan yang buruk dalam air, bioavailabilitas dan stabilitas yang rendah, terutama selama pengolahan, penyimpanan, dan transportasi. Akibatnya, sulit diaplikasikan kedalam produk makanan dan minuman (Dickison *et al.*, 2009). Oleh karena itu, diperlukan cara untuk mencegah kerusakan β -carotene yaitu enkapsulasi ke dalam sistem koloid atau *colloidal delivery system* (CDS), seperti nanopartikel yang dirakit dari biopolimer atau lemak yang aman untuk dikonsumsi (Winuprasith *et al.*, 2018).

Salah satu metode enkapsulasi adalah emulsi yang merupakan sistem penghantaran koloid untuk enkapsulasi senyawa bioaktif yang bersifat hidrofobik karena terdiri dari dua fase yaitu minyak dan air. *Food grade* emulsifier seperti surfaktan, fosfolipid, dan polisakarida, diperlukan untuk membentuk emulsi (McClements, 2015). Sedangkan, untuk menghasilkan emulsi yang lebih stabil diperlukan stabiliser seperti gum polisakarida dan selulosa. Pembentukan dan stabilitas emulsi sangat bergantung pada sifat emulsifier dan stabiliser yang digunakan. Misalnya droplet minyak yang dilapisi oleh globular protein sebagai emulsifier, sangat rentan terhadap agregasi pada nilai pH di sekitar titik isoelektriknya, pada kadar garam yang tinggi, dan di atas suhu denaturasi (Zhang *et al.*, 2015). Oleh sebab itu, perlu diidentifikasi lebih lanjut terkait alternatif stabilizer dan emulsifier berbasis nabati yang tidak sensitif terhadap lingkungan. Setiap jenis emulsifier dan stabilizer memiliki kelebihan dan kekurangan tertentu sehingga penting untuk menyiapkan emulsifier dan stabilizer yang paling tepat untuk produk tertentu. Selain itu, ada pertimbangan untuk menggunakan bahan pangan nabati yang alami daripada sintesis atau hewani karena dampak lingkungan, keberlanjutan, kesehatan, dan secara etika dianggap lebih baik.

Nanoselulosa dapat dimanfaatkan sebagai stabiliser karena beberapa karakteristik, seperti kepadatan rendah, keberlanjutan, biodegradabilitas, dan biaya rendah (Turbak *et al.*, 1983). Nanoselulosa dapat diperoleh dari limbah industri pertanian dan dapat diekstraksi menggunakan metode kimia dan mekanik untuk mendapatkan ukuran nano (1-100 nm) dan seragam (Isogai, 2013). Nanoselulosa diklasifikasikan menjadi dua kategori berbeda berdasarkan strukturnya. Pertama, nanokristalin selulosa (NCC) yang umumnya diproduksi dengan menggunakan hidrolisis asam, seperti asam sulfat. Asam menghidrolisis daerah amorf selulosa, sehingga memperoleh daerah kristal saja (Lu *et al.*, 2012). Kedua, nanofibrillated cellulose (NFC) yang merupakan fibril terjerat panjang dengan diameter dalam kisaran nanometer (Jiang *et al.*, 2013). NFC adalah salah satu bahan nabati alami terpenting

yang menunjukkan kemampuan untuk membentuk dan menstabilkan emulsi minyak dalam air (o/w) melalui "*pickering mechanism*" dengan membentuk penghalang sterik di sekitar droplet minyak (Winuprasith *et al.*, 2015; Winuprasith *et al.*, 2013). Hal ini juga didukung oleh Kalashnikova *et al.*, (2013) bahwa emulsi yang distabilkan NFC menurunkan tegangan antarmuka o/w, yang menyebabkan penurunan diameter droplet emulsi dan mencegah koelesensi.

Sejauh pengetahuan kami, belum ada literatur yang menjelaskan efisiensi selulosa jenis NCC sebagai penstabil o/w emulsi, terutama untuk meningkatkan stabilitas β -carotene. Dalam penelitian ini, NCC digunakan sebagai stabiliser dalam emulsi o/w. Pengaruh konsentrasi NCC pada sifat emulsi, stabilitas emulsi dan stabilitas β -carotene diidentifikasi. Studi ini memiliki implikasi penting untuk pemanfaatan stabiliser nabati alami dalam pengembangan *food grade* stabiliser dan kemampuannya dalam mengenkapsulasi senyawa bioaktif.

2. METODE

2.1 Persiapan emulsi sistem

Emulsi o/w dipersiapkan melalui dua tahap (McClements, 2015). Fase air terdiri dari 0,01% (b/b) natrium azida sebagai agen anti-mikroba, dan larutan buffer (10 mM natrium fosfat, pH 7,0). Fase minyak terdiri dari 1% tween 20 sebagai emulsifier dan 0,005% (b/b) β -carotene yang dilarutkan dalam minyak kedelai. Emulsi kasar dibuat dengan mencampur 10% (b/b) fase minyak dan 90% (b/b) fase air bersama-sama menggunakan homogeniser (M133/1281-0, Biospec Products, Inc., ESGC, Swiss) selama 2 menit pada suhu kamar (25°C). Kemudian, emulsi kasar diultrasonikasi menggunakan ultrasonikator (Model Intelligent Ultrasonic Processor, Nanjing Safer Biotech Co., Ltd) selama 5 menit dengan menggunakan probe No. 6 dengan power rate 50% untuk mendapatkan emulsi yang halus. NCC ditambahkan ke dalam emulsi pada konsentrasi 0,05%; 0,10%; dan 0,20% (b/b). Kemudian, distirer pada suhu kamar (25°C) selama 1 jam untuk sepenuhnya melarutkan NCC dalam emulsi.

2.2. Analisis

2.2.1. Creaming index

Tiga belas gram emulsi hari ke-0 dipindahkan ke dalam tabung reaksi kaca transparan (diameter 20 mm dan tinggi 70 mm), kemudian ditutup. Tabung sampel disimpan pada suhu kamar (25°C). Selanjutnya, pemisahan fase air dan minyak diamati selama 60 hari sebagai *creaming index*.

2.2.2. Viskositas

Viskositas emulsi pada hari ke-0 diukur menggunakan rheometer (Physica MCR 301, Anton Paar GmbH, Graz, Austria) yang dilengkapi dengan sensor *cone* dan *plate* (sudut

kerucut, diameter 50 mm, dan celah 0,05 mm). Informasi viskositas diperoleh berdasarkan steady flow. Sensor *cone* pengukur diprogram dengan meningkatkan shear rate secara linier dari 0,1 s⁻¹ hingga 300 s⁻¹ dalam 3 menit diikuti segera dengan pengurangan dari 300 s⁻¹ menjadi 0,1 s⁻¹ dalam 3 menit berikutnya. Suhu pengukuran dikontrol pada 25°C.

2.2.3. Warna

Diukur warna pada emulsi hari ke-0 dalam sistem L^* , a^* , b^* menggunakan Hunter Lab Digital Colorimeter (ColorFlex EZ, Hunter Associates Laboratory, Inc., Reston, Virginia). Pertama, kolorimeter dikalibrasi menggunakan piring porselen standar putih ($L^* = 97,10$, $a^* = -0,07$, $b^* = +1,97$). Sample dimasukkan kedalam wadah pengukuran, yang kemudian dikelilingi dengan penutup hitam. Dalam sistem warna ini, L^* mewakili kecerahan, a^* dan b^* adalah koordinat warna: di mana +a adalah merah, -a adalah hijau, +b adalah kuning, dan -b adalah arah biru. Perbedaan warna total (ΔE) diukur dengan persamaan sebagai berikut:

$$\sqrt{(L^*_{ii} - L^*_i)^2 + (a^*_{ii} - a^*_i)^2 + (b^*_{ii} - b^*_i)^2}$$

dimana, i adalah emulsi mengandung β -carotene tanpa NCC dan ii adalah emulsi mengandung β -carotene dengan penambahan NCC pada konsentrasi 0,05; 0,10; dan 0,20%.

2.2.4. Ukuran partikel

Ukuran partikel dari emulsi pada hari ke-0 dianalisa dengan menggunakan laser diffraction particle size analyzer (Mastersizer 2000; Malvern Instruments Ltd., Malvern, Worcestershire, UK). Sampel diencerkan dalam larutan buffer fosfat 10mM (pH 7) untuk menghindari efek hamburan ganda, kemudian diaduk pada 1.200 rpm sampai diperoleh tingkat pengaburan 10-15%. Indeks bias fase minyak dan air yang digunakan dalam perhitungan masing-masing adalah 1,46 dan 1,33. Diameter partikel dilaporkan sebagai surface-weighted mean diameter (d_{32}) dan volume-weighted mean diameter (d_{43}), yang dihitung dari distribusi ukuran partikel penuh.

2.2.5. Muatan partikel (ζ -potential)

Muatan partikel atau ζ -potential dari droplet emulsi o/w pada hari ke-0 diukur menggunakan instrumen elektroforesis partikel (Zetasizer Nano ZS, Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, Inggris Raya). Sampel diencerkan menggunakan larutan buffer fosfat 10mM (pH 7) untuk menghindari efek hamburan.

2.2.6. Pengukuran stabilitas β -carotene

Stabilitas β -carotene diukur menggunakan metode yang sebelumnya dijelaskan oleh Qian *et al.*, (2012). Sampel emulsi diekstraksi dengan kloroform (1:1) kemudian disentrifugasi pada 1750 rpm selama 10 menit (Anting TGL-16B, Shanghai, China, 1.5MLx12) dan kemudian fase bawah sebagai β -carotene yang tidak terenkapsulasi. β -carotene yang tersisa dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis pada 471 nm. Konsentrasi β -carotene ditentukan

dengan menggunakan kurva kalibrasi. Stabilitas β -carotene diamati pada minggu ke 0, 1, 2, 4, dan 8 dan disimpan di tempat gelap kemudian botol ditutup menggunakan aluminium foil agar tidak terdegradasi oleh cahaya. Stabilitas β -carotene diukur sebagai jumlah β -carotene yang tersisa dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Stabilitas} = 100 \times (C_t / C_0)$$

dimana, C_t adalah konsentrasi β -carotene pada waktu pengamatan, dan C_0 adalah konsentrasi β -carotene pada minggu sebelumnya.

2.2.7. Analisis statistik

Semua analisa dilakukan dalam tiga kali pengulangan. Data dilaporkan sebagai rata-rata \pm standar deviasi dan dianalisis dengan menggunakan analisis variansi (ANOVA) satu arah. Hasil yang signifikan dilanjutkan dengan uji Duncan untuk menunjukkan perbedaan yang signifikan pada $p \leq 0,05$.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Pengaruh penambahan NCC terhadap stabilitas emulsi

Pengaruh dari nanokristalin selulosa (NCC) pada konsentrasi 0,05; 0,10; dan 0,20 % (b/b) pada ukuran partikel emulsi terlihat pada **Tabel 1**. Terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara d_{32} pada emulsi tanpa NCC dan emulsi yang mengandung NCC. Emulsi yang mengandung NCC memiliki diameter droplet minyak yang lebih kecil daripada yang tidak mengandung NCC. Selain itu, tidak ada perbedaan yang signifikan dalam d_{32} emulsi yang mengandung NCC untuk semua konsentrasi. Di sisi lain, d_{43} dari emulsi yang mengandung NCC pada semua konsentrasi secara signifikan lebih kecil ($p < 0,05$) dibandingkan dengan tanpa NCC. Diameter droplet minyak yang lebih kecil dalam emulsi yang mengandung NCC dapat terjadi karena struktur asli NCC yang pendek, dan kecil serta berukuran nano karena hanya mengandung komponen crystalline dan tanpa amorphouse sehingga fase minyak dan air tersebar secara merata dan berukuran kecil. Dikonfirmasi oleh hasil d_{43} dimana nilai d_{43} pada emulsi yang mengandung NCC juga lebih kecil dibandingkan tanpa NCC. Umumnya, d_{43} lebih sensitif dengan adanya partikel besar dalam sistem polidispersi sehingga dapat digunakan untuk mengidentifikasi sejumlah kecil koalesensi atau flokulasi dalam emulsi (McClements., 2015). Menariknya, d_{43} menurun secara signifikan ($p < 0,05$) dari 2.68 menjadi 2.03 dengan peningkatan konsentrasi NCC dari 0,05% (b/b) menjadi 0,20% (b/b). Fenomena ini dapat terjadi dalam hal efek stabilisasi dengan meningkatkan viskositas pada fase kontinu oleh jaringan tiga dimensi NCC, sehingga mencegah agregasi dan koalesensi droplet minyak (Winuprasith *et al.*, 2015).

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi NCC pada *surface-weighted* (d_{32}), *volume-weighted* (d_{43}), viskositas pada shear rate 100/s, dan ζ -potential pada Tween 20-penstabil 10% (b/s) o/w emulsi yang mengandung β -carotene.

Emulsion sample	NCC concentration (%)	d_{43} (μm)	d_{32} (μm)	Apparent viscosity (Pa s)	ζ -potential (mV)
NCC	0	2.98 \pm 0.14c	1.10 \pm 0.01c	0.0010 \pm 0.001a	-19.80 \pm 3.40b
	0.05	2.68 \pm 0.21c	1.08 \pm 0.01cd	0.0012 \pm 0.001b	-26.08 \pm 0.44a
	0.10	2.65 \pm 0.29c	1.05 \pm 0.01d	0.0013 \pm 0.001b	-27.84 \pm 0.51a
	0.20	2.03 \pm 0.23d	1.05 \pm 0.01d	0.0014 \pm 0.001b	-29.26 \pm 0.47a

Keterangan: Pengujian dilakukan dalam tiga kali pengulangan. Nilai mean \pm standar deviasi pada kolom yang sama diikuti dengan huruf kecil yang berbeda (a-d) menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Hasil ini juga dikonfirmasi oleh viskositas pada shear rate 100 s⁻¹ (**Tabel 1**) yang diukur dengan rheometer. Hasil ini menunjukkan bahwa viskositas emulsi meningkat dengan meningkatnya konsentrasi NCC. Viskositas yang lebih tinggi dapat membantu mencegah pergerakan droplet minyak sebagai indikasi stabilitas emulsi yang lebih baik. Hasil ini menunjukkan bahwa viskositas emulsi sangat tergantung dengan konsentrasi NCC itu sendiri karena struktur jaringan tiga dimensi yang ada (dari NCC) pada fase kontinu, sehingga mencegah droplet dari agregasi dan penggabungan (Winuprasith & Suphantharika, 2015). McClements (2015) menyebutkan tentang hukum Stokes, dimana viskositas yang lebih tinggi dari fase kontinu yang mampu melawan terjadinya *creaming*.

Tabel 1 juga menunjukkan besarnya ζ -potential, dimana dalam kontrol emulsi (-19,80 mV) secara signifikan lebih rendah ($p < 0,05$) dibandingkan emulsi yang mengandung NCC pada semua konsentrasi. Sehingga, dapat disimpulkan bahwa penambahan NCC dari 0,05% sampai 0,20% (b/b) dapat meningkatkan ζ -potential hingga -29,26 mV. ζ -potential pada kontrol emulsi (-19.80mV) lebih rendah karena emulsi hanya terdiri dari tween 20 di mana tween 20 merupakan non-ionik surfaktan (Nylander., 2004). Tween 20 tidak diharapkan untuk memberikan muatan apa pun karena fakta bahwa Tween 20 diklasifikasikan sebagai non-ionik surfaktan. Disisi lain, kontrol emulsi memiliki muatan negatif yang cukup besar, hal ini berkaitan dengan adsorpsi preferensial ion hidroksil (OH⁻) dari fase air atau kehadiran pengotor anionik selama persiapan emulsi (McClements, 2005). ζ -potential dari emulsi yang mengandung NCC pada 0,20% (b/b) adalah - 29,26 mV. NCC adalah polisakarida anionik yang mempromosikan gaya tolak elektrostatis antara droplet (Winuprasith & Suphantharika, 2013). Hal ini juga didukung oleh Mitbumrung *et al.*, (2019) bahwa adanya asam sulfat selama ekstraksi NCC menyebabkan adanya gugus OH pada permukaan NCC dan sebagian bereaksi dengan asam sehingga menciptakan muatan gugus ester sulfat pada permukaannya sebagai hasil dari peningkatan besarnya ζ -potential. Nilai absolut dari ζ -potential yang lebih tinggi dari 25-30 mV dapat memberikan tolakan elektrostatis yang kuat antara droplet minyak

untuk mengatasi daya tarik interaksi Van der Waals, sehingga meningkatkan stabilitas emulsi (Hunter, 1986).

Pengaruh NCC terhadap warna ditunjukkan pada **Tabel 2**. Parameter warna meliputi *L*^{*}, kemerahan (*a*^{*}), kekuningan (*b*^{*}), dan perbedaan warna total (ΔE). Semua emulsi yang baru disiapkan menunjukkan warna kuning-oranye dari β -carotene (**Gambar. 1**) seperti yang ditunjukkan oleh *a*^{*} dan *b*^{*} yang tinggi. β -carotene merupakan keluarga pigmen terbesar yang diproduksi oleh alam dan telah digunakan selama berabad-abad untuk memberikan warna kuning hingga oranye pada makanan (Khoo *et al.*, 2011). Dari teori, *L*^{*} berhubungan dengan ukuran partikel droplet minyak. Emulsi mengandung rentang ukuran droplet minyak yang berbeda sehingga gelombang cahaya dihamburkan secara berbeda oleh setiap kelas ukuran droplet minyak dimana ukuran droplet yang lebih besar dapat menyerap lebih banyak cahaya, sehingga menurunkan nilai *L*^{*} (Bohren dan Huffman, 1983). *L*^{*} menurun dengan meningkatnya konsentrasi NCC karena viskositas emulsi menjadi lebih besar pada konsentrasi NCC yang lebih tinggi. Terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) pada *L*^{*} dari kontrol dan emulsi yang mengandung NCC pada semua konsentrasi. Adanya pewarna kuning yaitu β -carotene dapat menghambat pengaruh diameter droplet minyak terhadap *L*^{*}. NCC secara asli memiliki kenampakan warna putih keruh sehingga dapat mempengaruhi penurunan *L*^{*} setelah penambahan NCC dan warnanya cenderung lebih pekat seiring dengan peningkatan konsentrasi NCC walaupun tidak berbeda nyata di tiap konsentrasinya. Nilai perbedaan warna total (ΔE) perbandingan antara emulsi yang mengandung NCC dan kontrol lebih rendah dari 1,00 untuk semua konsentrasi NCC, menunjukkan bahwa mata manusia tidak dapat mendeteksi perbedaan warna antara kontrol dan emulsi yang mengandung NCC (Kurek *et al.*, 2018). Umumnya, peningkatan ΔE dapat digunakan untuk menunjukkan degradasi β -carotene.

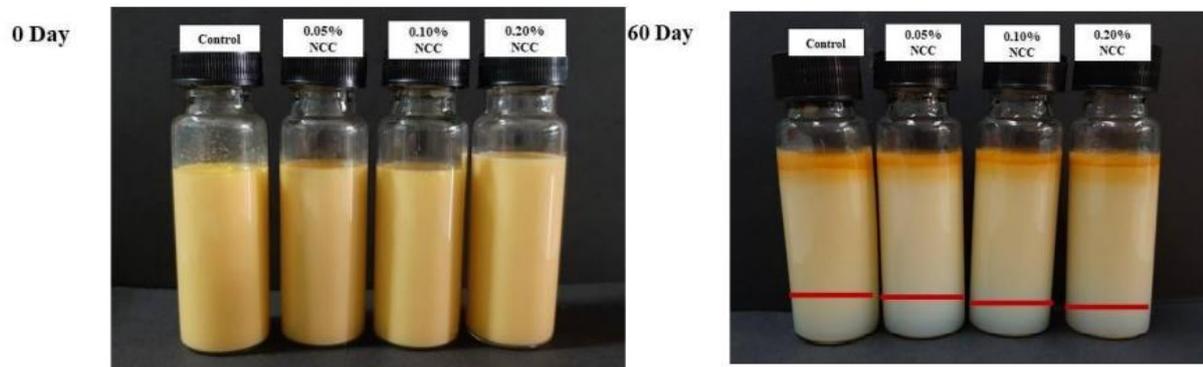
Tabel 2. Pengaruh konsentrasi NCC pada warna (*L*^{*}, *a*^{*}, *b*^{*}) dan perbedaan warna total (ΔE) pada tween 20-penstabil 10% (b/s) o/w emulsi yang mengandung β -carotene.

Emulsion sample	NCC concentration (%)	<i>L</i> [*]	<i>a</i> [*]	<i>b</i> [*]	ΔE
Control	0	56.84 ± 0.04b	-0.17 ± 0.01a	0.26 ± 0.01ab	-
NCC	0.05	56.93 ± 0.01a	-0.15 ± 0.01b	0.28 ± 0.01a	0.43 ± 0.01c
	0.10	56.95 ± 0.06a	-0.16 ± 0.01ab	0.222 ± 0.01ab	0.54 ± 0.02b
	0.20	56.87 ± 0.04a	-0.17 ± 0.01a	0.24 ± 0.04cd	0.65 ± 0.01a

Keterangan: Pengujian dilakukan dalam tiga kali pengulangan. Nilai mean ± standar deviasi pada kolom yang sama diikuti dengan huruf kecil yang berbeda (a-d) menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Oleh karena itu dapat diasumsikan bahwa peningkatan nilai perbedaan warna total dapat terjadi karena penambahan NCC itu sendiri yang berpengaruh pada perbedaan warna yang lebih tinggi pada emulsi.

Creaming index ditunjukkan pada **Gambar 1**. di mana semua emulsi yang diuji tidak mengalami *creaming* sampai hari ke 7 penyimpanan. Namun, setelah 30 hari penyimpanan *creaming* mulai terbentuk dan terus meningkat sampai hari ke 60. Kontrol emulsi memiliki *creaming index* tertinggi dibanding NCC pada seluruh konsentrasi. Dimana penambahan NCC dari konsentrasi 0,05 sampai 0, 20% (b/b) dapat menurunkan laju *creaming*.



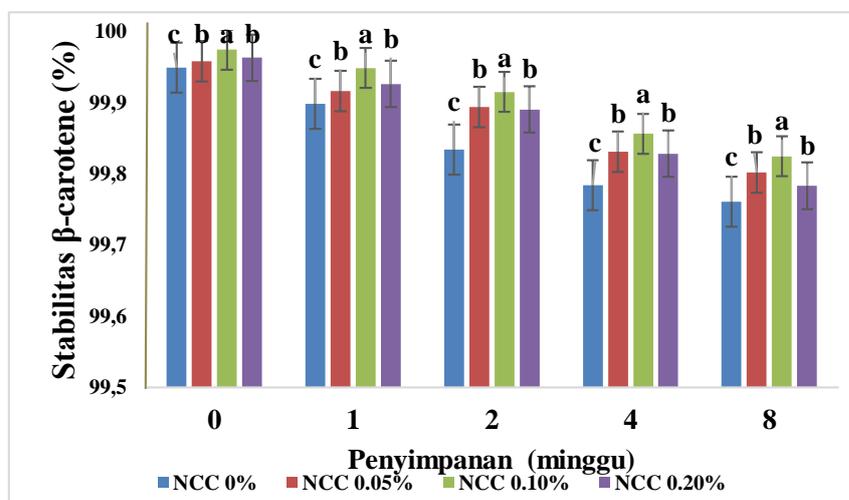
Gambar 1. *Creaming index* (%) dari Tween 20-penstabil 10% (b/s) o/w emulsi yang mengandung β -carotene dan distabilkan oleh NCC pada berbagai konsentrasi (0,05, 0,10, 0,20%) (b/b) pada hari ke-0 hari dan 60.

Penambahan NCC menyebabkan peningkatan viskositas emulsi yang efektif membantu memperlambat gerakan droplet minyak ke atas, sehingga menurunkan peluang terjadinya *creaming*. Seperti disebutkan sebelumnya, diharapkan emulsi memiliki stabilitas yang baik karena tolakan elektrostatis yang relatif tinggi sebagai akibat dari tingginya ζ -potential (Sadeghifar *et al.*, 2011; Winuprasith, 2015). Oleh karena itu, dapat diasumsikan bahwa meningkatkan konsentrasi NCC hingga 0,20%(b/b) akan membuat emulsi memiliki umur simpan yang lebih lama karena laju *creaming index* menjadi lambat. *Creaming* sering digunakan sebagai prekursor untuk sifat ketidakstabilan lainnya, terutama flokulasi dan koalesensi (Rayner *et al.*, 2014). Namun, perlu dicatat bahwa peningkatan waktu penyimpanan diperlukan untuk mengamati pemisahan fase dengan lebih jelas

3.2. Pengaruh penambahan NCC terhadap stabilitas β -carotene

Untuk aplikasi komersial, penting bahwa β -carotene dalam produk makanan dan minuman harus stabil tanpa degradasi selama pemrosesan, transportasi, dan penyimpanan. Oleh karena itu, evaluasi stabilitas β -carotene dalam emulsi selama penyimpanan perlu dilakukan karena karakteristik β -carotene yang mudah terdegradasi oleh tekanan lingkungan, seperti suhu tinggi, oksigen, dan cahaya (Liang *et al.*, 2013). Pengaruh konsentrasi NCC terhadap stabilitas β -carotene dalam emulsi ditunjukkan pada **Gambar 2**. Stabilitas β -carotene di semua emulsi menurun dengan bertambahnya waktu penyimpanan (0, 1, 2, 4, dan 8 minggu). Namun, penambahan NCC membantu mempertahankan β -carotene dalam

emulsi, terutama pada 0,20% (b/b) NCC. Ini berhubungan dengan sifat emulsi yang mengandung NCC. Emulsi yang mengandung NCC memiliki viskositas yang lebih tinggi dibandingkan tanpa NCC. Sehingga, luas Area permukaan emulsi yang mengandung NCC menurun dan memiliki kontak yang lebih sedikit dengan tekanan lingkungan seperti suhu, oksigen, dan cahaya, sehingga meningkatkan stabilitas β -carotene (Qian *et al.*, 2012). Peningkatan viskositas emulsi yang distabilkan oleh NCC menurunkan mobilitas oksigen dan senyawa lain yang mungkin berinteraksi dengan β -carotene dalam fase minyak, sehingga mengurangi kehilangan dan meningkatkan stabilitas β -carotene. Hal ini juga dikonfirmasi oleh Liang *et al.*, (2013) bahwa peningkatan viskositas beberapa larutan mencegah senyawa bioaktif dari degradasi karena penurunan mobilitas sistem emulsi.



Gambar.2. Stabilitas β -carotene pada Tween 20-penstabil 10% (b/s) o/w emulsi yang mengandung β -carotene dan distabilkan oleh NCC pada berbagai konsentrasi (0,05, 0,10, 0,20%) (b/b) selama penyimpanan pada suhu kamar (25 °C) selama 8 minggu. Error bar menunjukkan standar deviasi pada tiap waktu penyimpanan (0,1,2,4,8 minggu) yang sama dan diikuti dengan huruf kecil yang berbeda (a-c) menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

4. KESIMPULAN

Dalam penelitian ini, efek nanokristalin selulosa (NCC) pada berbagai konsentrasi dari 0,05% (b/b) hingga 0,20% (b/b) pada sifat emulsi dan stabilitas β -carotene diidentifikasi. Peningkatan konsentrasi NCC menyebabkan penurunan ukuran partikel dari emulsi dikarenakan oleh sifat asli dari NCC yang hanya terdiri dari bagian kristalinitas. Selanjutnya, peningkatan konsentrasi NCC menyebabkan peningkatan ζ -potential dan viskositas pada emulsi sehingga emulsi lebih stabil. Untuk warna, penambahan NCC ke dalam emulsi tidak menyebabkan perbedaan warna yang terlihat oleh mata manusia. Penambahan konsentrasi NCC dari 0,05 menjadi 0,20% (b/b) dapat menurunkan laju *creaming index* sebagai indikator kestabilan emulsi. Emulsi yang mengandung NCC memiliki stabilitas β -carotene yang lebih

tinggi karena luas permukaan yang kontak dengan tekanan lingkungan menjadi lebih kecil. Informasi yang diperoleh dari penelitian ini penting untuk aplikasi lebih lanjut, misalnya menggunakan emulsi stabil yang mengandung nanoselulosa sebagai sistem pengiriman koloid untuk enkapsulasi bahan bioaktif yang larut dalam minyak.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dukungan keuangan dari Dana Penelitian Thailand dan Kantor Komisi Pendidikan Tinggi (Hibah No.MRG 6280236) kepada Thunnalin Winuprasith. Penulis juga mengucapkan terima kasih atas sebagian dukungan finansial kepada Ichlasia Ainul Fitri dari Faculty graduates study Mahidol University. Kami ingin mengucapkan terima kasih kepada CP Foodlab Co., Ltd. (Thailand) untuk menyediakan rheometer.

REFERENSI

- Abdel, A, E, S. M., Akhtar, M, H. (2006). Recent advances in the analyses of carotenoids and their role in human health. *Current Pharmaceutical Analysis*. 2:195–204. : <https://www.tandfonline.com/loi/oafa20>
- Bohren, C, F., Huffman, D, R. (1983). Adsorption and scattering of light by small particles, John Wiley and Sons, New York, NY. 10.1002/9783527618156
- Dickinson, E. (2009). Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*. 23:1473-1482. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.08.005>
- Isogai, A. (2013). Wood nanocelluloses: fundamentals and applications as new bio-based nanomaterials. *Journal Wood Science*. 59: 59-449. 10.1007/s10086-013-1365-z
- Jiang, F., Hsieh, Y, L. (2013). Chemically and mechanically isolated nanocellulose and their self-assembled structure. *Carbohydrate polymer*. 95:32-40.10.1016/j.carbpol.2013.02.022
- Kalashnikova,I., Bizot, H., Bertoncini, P., Cathala, B., Copron, I. (2013). Cellulosic nanorods of various aspect ratios for oil in water pickering emulsions. *Soft Matter*. 9: 952-959. <https://doi.org/10.1039/C2SM26472B>
- Khoo, H, E., Prasad, K, N., Kong, K, W., Jiang, Y., Ismail, A. (2011). Caretonoids and their isomers: color pigments in fruits and vegetables. *Molecules*. 16: 1710-1738. doi:10.3390/molecules16021710
- Kurek, M., Garofulic, I, E., Bakic, M, T., Scetar, M., Uzelac, V.D., Galic, K. (2018). Development and evaluation of a novel antioxidant and pH indicator film chitosan and food waste sources of antioxidants. *Food Hydrocolloids*. 84: 238-246. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.05.050>
- Liang, R., Shoemaker, C, F., Yang, X., Zhong, F., Huang, Q. (2013). Stability and bioaccessibility of β -carotene in nanoemulsions stabilized by modified starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61:1249-1257.
- Lu, P., Hsieh, Y, L. (2012). Preparation and characterization of cellulose nanocrystals from rice straw. *Carbohydrate polymer*. 87:73-564. DOI: 10.1021/jf303967f
- Mc. Clements, D, J. (2015). Enhancing nutraceutical bioavailability through food matrix design. *Current opinion in food science*. 4:1-6. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2014.12.008>
- Mitbumrung, W., Suphantharika, M., McClements, D, J., Winuprasith, T. (2019). Encapsulation of vitamin D3 in pickering emulsion stabilized by nanofibrillated mangosteen cellulose:

- Effect of environmental stresses. *Journal of food science*. 4:1-9. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14835>
- Qian, C., Decker, E. A., Xiao, H., McClements, D. J. (2012). Physical and chemical stability of β -carotene-enriched nanoemulsions: Influence of pH, ionic strength, temperature, and emulsifier type. *Food Chemistry*. 132:1221-1229. 10.1016/j.foodchem.2011.11.091
- Turbak, A, F., Snyder, F, W., Sandberg, K, R. (1983). Microfibrillated cellulose, a new cellulose product: properties, uses, and commercial potential. *Journal Application Polymer Science*. 37: 27-55.
- Varanasi, S, H, R., Batchelor, W. (2013). Estimation of cellulose nanofibre aspect ratio from measurement of fiber suspension gel point. *Cellulose*. 20:1885-1896. 10.1007/s10570-013-9972-9
- Winuprasith, T., Khomein, P., Mitbumrung, W., Suphantharika, M., Nitithamyon, A., McClements, D, J. 2018. Encapsulation of vitamin D₃ in pickering emulsions stabilized by nanofibrillated mangosteen cellulose: Impact on *in vitro* digestion and bioaccessibility. *Food hydrocolloids*. 83:153-164. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.04.047>
- Winuprasith, T., Suphantharika, M. (2015). Properties and stability of oil-in-water emulsions stabilized by microfibrillated cellulose from mangosteen rind. *Food hydrocolloids*. 43:690-699. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.07.027>
- Winuprasith, T., Suphantharika, M. (2013). Microfibrillated cellulose from mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) rind: preparation, characterization, and evaluation as an emulsion stabilizer. *Food hydrocolloids*. 32: 383-394. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.01.023>
- Zhang, Z., Zhang, R., Chen, L., Tong, Q., & McClements, D. J. (2015). Designing hydrogel particles for controlled or targeted release of lipophilic bioactive agents in the gastrointestinal tract. *European Polymer*. 72:698-716. 10.1016/j.eurpolymj.2015.01.013