

**PEMISAHAN DAN PEMURNIAN TOKOFEROL PADA *HIGH ACID*
CRUDE PALM OIL (HACPO) DENGAN METODE *HIGH PERFORMANCE*
LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)**

(Skripsi)

Oleh

**Andra Fahreza Dwi Saputra
NPM 2117011084**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

PEMISAHAN DAN PEMURNIAN TOKOFEROL PADA *HIGH ACID CRUDE PALM OIL* (HACPO) DENGAN METODE *HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY* (HPLC)

Oleh

Andra Fahreza Dwi Saputra

High acid crude palm oil (HACPO) merupakan salah satu sumber vitamin E alami (tokoferol) dengan aktivitas antioksidan yang tinggi. Tingginya *free fatty acid* (FFA) pada HACPO menjadi masalah besar bagi industri pengolahan minyak karena kelebihan FFA mempercepat proses oksidasi minyak sehingga dapat menurunkan kualitas dan stabilitasnya sehingga perlu dilakukan pemisahan dari tokoferol. Penelitian ini bertujuan untuk memisahkan dan memurnikan tokoferol dari HACPO menggunakan metode saponifikasi dan kromatografi kolom, serta melakukan analisis kualitatif menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dan analisis kuantitatif menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Proses saponifikasi dilakukan untuk memisahkan fraksi tak tersabunkan, yang kemudian dimurnikan melalui kromatografi kolom menggunakan fase gerak campuran heksan:dietil eter. Pemisahan senyawa dianalisis melalui kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil Spektrofotometer UV-Vis menunjukkan panjang gelombang maksimum tokoferol berada pada 287 nm, dengan kadar sebesar 68,2 ppm dalam sampel. Hasil HPLC menunjukkan waktu retensi 3,7 menit untuk standar dan 4,1 menit untuk sampel, terdapat selisih 0,4 menit. Teknik ini perlu dikembangkan lebih lanjut untuk proses optimasi dalam pemurniannya.

Kata Kunci : Tokoferol, HACPO, saponifikasi, kromatografi kolom, Uv-Vis, HPLC

ABSTRACT

Separation and Purification of Tocopherol from High Acid Crude Palm Oil (HACPO) Using High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

By

Andra Fahreza Dwi Saputra

High acid crude palm oil (HACPO) is a natural source of Vitamin E (tocopherol) with high antioxidant activity. The high level of free fatty acid (FFA) in HACPO is a major problem for the oil processing industry because the excess FFA accelerates the oil's oxidation process, which can reduce its quality and stability, making it necessary to separate it from tocopherol. This research aims to separate and purify tocopherol from HACPO using saponification and column chromatography methods, and to perform qualitative analysis using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and quantitative analysis using a UV-Vis spectrophotometer. The saponification process was carried out to separate the unsaponifiable fraction, which was then purified through column chromatography using a hexane:diethyl ether mixture as the mobile phase. Compound separation was analyzed through Thin Layer Chromatography (TLC). The UV-Vis Spectrophotometer results showed the maximum wavelength of tocopherol was at 287 nm, with a content of 68.2 ppm in the sample. The HPLC results showed a retention time of 3.7 minutes for the standard and 4.1 minutes for the sample, with a difference of 0.4 minutes. This technique needs to be further developed for the optimization process in its purification.

Keywords: Tocopherol, HACPO, saponification, column chromatography, UV-Vis, HPLC.

**PEMISAHAN DAN PEMURNIAN TOKOFEROL PADA *HIGH ACID
CRUDE PALM OIL* (HACPO) DENGAN METODE *HIGH PERFORMANCE
LIQUID CHROMATOGRAPHY* (HPLC)**

Oleh

ANDRA FAHREZA DWI SAPUTRA

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

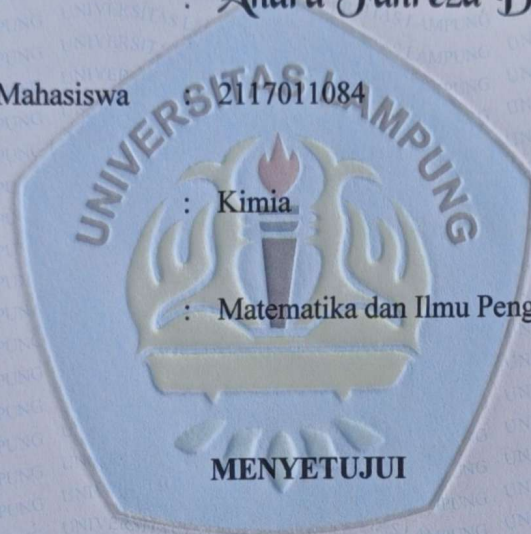
Judul : **PEMISAHAN DAN PEMURNIAN
TOKOFEROL PADA *HIGH ACID CRUDE*
PALM OIL (HACPO) DENGAN METODE
HIGH PERFORMANCE LIQUID
CHROMATOGRAPHY (HPLC)**

Nama : **Andra Fahreza Dwi Saputra**

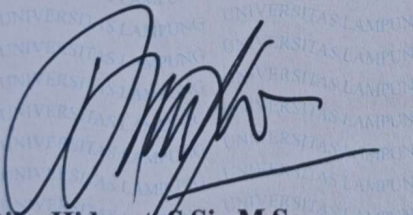
Nomor Pokok Mahasiswa : **2117011084**

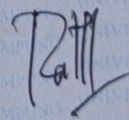
Jurusan : **Kimia**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



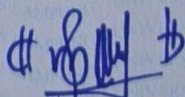
1. Komisi Pembimbing


Diky Hidayat, S.Si., M.Sc.
NIP. 197406092005011002



Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih M.Si.
NIP. 197707132009122002

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung



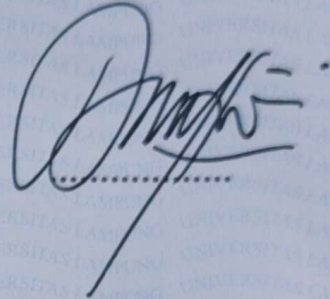
Prof. Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si.
NIP. 197205302000032001

MENGESAHKAN

1. Tim penguji

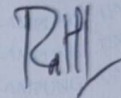
Ketua

: **Diky Hidayat, S.Si., M.Sc.**



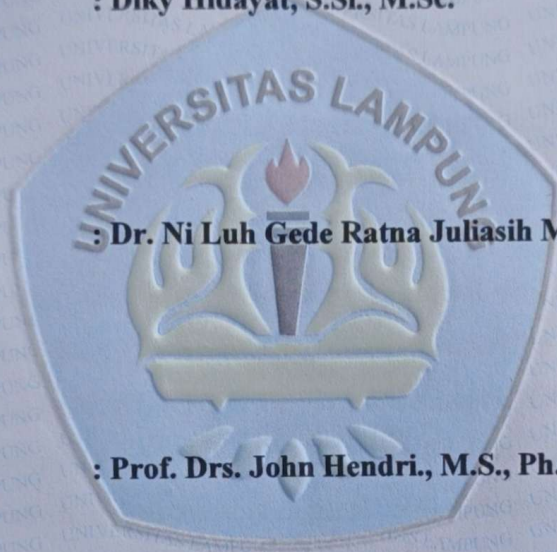
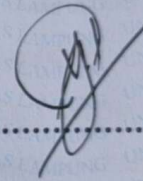
Sekretaris

: **Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih M.Si.**



Anggota

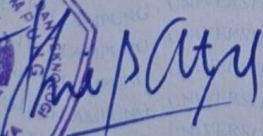
: **Prof. Drs. John Hendri., M.S., Ph.D.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, M.Si.
NIP. 197110012005011002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 29 September 2025

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Andra Fahreza Dwi Saputra
NPM : 2117011084
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul **“Pemisahan Dan Pemurnian Tokoferol Pada *High Acid Crude Palm Oil* (HACPO) Dengan Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)”** adalah benar karya saya sendiri dan saya tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi sesuai dengan kesepakatan.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenar-benarnya untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 13 Oktober 2025
Yang Menyatakan,



Andra Fahreza Dwi Saputra
NPM. 2117011084

RIWAYAT HIDUP



Andra Fahreza Dwi Saputra lahir di Bandar Lampung pada 23 Mei 2002. Penulis adalah anak kedua dari tiga bersaudara yang berasal dari orang tua yang sangat luar biasa, yaitu pasangan Ayah Zaenal Haris dan Mama Iin Ainatu Munawarah. Penulis menyelesaikan pendidikan pendidikan Sekolah Dasar di SDN 2 Sukarame dan lulus pada tahun 2014, melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama pada tahun 2014-2017 di SMP Negeri 24 Bandar Lampung dan Sekolah Menengah Kejuruan di SMK N SMTI Lampung pada tahun 2017-2020.

Penulis diterima sebagai mahasiswa Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Lampung (Unila) melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) pada tahun 2021. Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif dalam Himpunan Mahasiswa Kimia (Himaki) Jurusan Kimia FMIPA Unila sebagai anggota Bidang Sosial Masyarakat (SOSMAS) selama dua periode 2022/2023 dan 2023/2024. Penulis menyelesaikan praktik kerja lapangan (PKL) di Laboratorium Balai Standarisasi Dan Pelayanan Jasa Industri (BSPJI) Bandar Lampung, dengan judul “ Penentuan Kadar Logam Zn Pada Sampel Air Limbah Mengacu Pada Sni-6989-84-2019 Menggunakan Metode SSA (Spektrofotometer Serapan Atom) Di Laboratorium Balai Standarisasi Dan Pelayanan Jasa Industri (BSPJI) Bandar Lampung ”. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Periode I tahun 2024 selama 40 hari pada bulan Januari-Februari 2024 di Desa Batu Menyan, Kecamatan Teluk Pandan, Kabupaten Pesawaran, Lampung. Pada bulan Januari-

Juli 2025, penulis menyelesaikan penelitian yang dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik, Universitas Lampung dan Laboratorium Instrumen, Universitas Lampung dengan judul “ **Pemisahan Dan Pemurnian Tokoferol Pada *High Acid Crude Palm Oil* (Hacpo) Dengan Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)**”.

MOTTO

"...Dan aku menyerahkan urusanku kepada Allah. "

"Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi (pula) kamu menyukai sesuatu, padahal ia amat buruk bagimu. Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui."

(QS. Al-Baqarah: 216)

"Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi dan pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang yang berakal."

(QS. Āli ‘Imrān: 190).

"Life is like riding a bicycle. To keep your balance you must keep moving."

~Albert Einstein~

PERSEMBAHAN



Alhamdulillahirabbil ‘alamin, puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya, dengan penuh rasa syukur dan segala kerendahan hati, ku mempersembahkan skripsi ini sebagai wujud bakti dan tanggung jawabku kepada:

Kedua Orang Tuaku Tercinta **Ayah Zeanal Haris** dan **Mama Iin Ainatu Munawarah** yang senantiasa memberi dukungan dan kasih sayangnya kepadaku, serta doa yang dihaturkan untuk mengiringi setiap langkahku. Semoga Allah SWT hadiahkan Jannah-Nya, Aamiin yaa Robbal’alamin.

Kakakku, **Indah Permatasari Eka Putri** dan adikku **Ibrahim Tri Caesar Mouvic** yang telah mendoakan dan memberikan dukungan dalam segala hal. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan keberkahan dan kebahagiaan ditengah keluarga ini.

Pembimbing penelitianku, **Bapak Diky Hidayat, S.Si., M.Sc., dan Ibu Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih M.Si.**, serta seluruh **Dosen Jurusan Kimia** yang telah membimbing, mendidik, dan memberikan banyak ilmu kepada penulis selama menjalani proses pendidikan sarjana.

Dan untuk;

Keluarga besar, teman-teman seperjuangan, diriku sendiri, dan Almamater tercinta, Universitas Lampung.

SANWACANA

Alhamdulillahirabbil'alamin, Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini. Shalawat serta salam selalu tercurah kepada Baginda Nabi Muhammad SAW, semoga kita mendapat syafa'at-Nya di yaumul akhir nanti, aamiiin yarabbal'alamin. Skripsi ini berjudul "**Pemisahan Dan Pemurnian Tokoferol Pada *High Acid Crude Palm Oil* (HACPO) Dengan Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)**", yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Sains (S.Si.) pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bimbingan, bantuan, saran, kritik, dan doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu, sebagai wujud rasa hormat, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Kepada yang tercinta, rencana terkuat untuk tetap hidup. Ayah Zaenal Haris dan Mama Iin Ainatu Munawarah, terima kasih telah memberikan bentuk cinta, kasih sayang, melangitkan doa-doa baik yang tiada putus untuk penulis, dan materi tanpa henti selama masa studi penulis, serta menjadi motivasi dan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Kepada mama, terima kasih karena sudah menjadi alasan penulis dapat menyelesaikan perkuliahan dan menjalani kehidupan ini dengan kuat.
2. Kepada kakakku, Indah Permatasari Eka Putri dan adikku Ibrahim Tri Caesar Mouvic yang telah mendengarkan keluh kesah penulis, menemani, mendukung, memberikan nasihat, doa serta menjadi penyemangat untuk penulis.

3. Bapak Diky Hidayat, S.Si., M.Sc., selaku Dosen Pembimbing 1, atas segala bimbingan, dukungan, motivasi, waktu, arahan dan kesabarannya yang diberikan kepada penulis sehingga dapat dengan lancar dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi ini.
4. Ibu Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih M.Si., selaku Dosen Pembimbing 2, yang juga telah memberikan masukan dan saran yang sangat berharga dalam penyempurnaan skripsi ini.
5. Bapak Prof. Drs. John Hendri., M.S., Ph.D., selaku Dosen Pembahas yang telah memberikan ilmu, arahan, kritik, dan saran kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik dan lancar.
6. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Lampung.
7. Ibu Prof. Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
8. Ibu Dr. Dian Herasari, M.Si., selaku Sekretaris Jurusan Kimia FMIPA Unila.
9. Ibu Dra. Aspita Laila, M.S., selaku Dosen Pembimbing Akademik, atas segala bimbingan dan masukan yang telah diberikan kepada penulis selama perkuliahan di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
10. Bapak Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Unila atas segala ilmu yang telah diberikan kepada penulis.
11. Staff, laboran, dan karyawan Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah memberikan bantuan kepada penulis.
12. Diky Hidayat *Research* 21, Vira, Radit dan Salma, sebagai rekan sepekerjaan dan sepekerjaan dalam penelitian, yang telah banyak membantu, memberikan dukungan, serta bekerja sama dengan penulis, sehingga penelitian dan skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
13. Teman-teman dan Kakak-kakak Laboratorium Kimia Analitik, Universitas Lampung, atas segala bantuan dan kerjasama selama penelitian.
14. Teman-teman Kimia 2021, atas segala bantuan dan kerjasama selama menjadi mahasiswa jurusan kimia.
15. Kimia A 2021, yang telah kebersamaan penulis melewati semester demi semester selama perkuliahan.

16. Kepada teman seperjuangan Hafiz, Fildza dan Khairi yang selalu dan memberikan *support* kepada penulis.
17. Sahabat “TIT”, Abdurachman S, S.Si., Hafis Sadewa Utama, S.Si., Raditya Adam Narendra, S.Si., dan Ramandika Abi Karami, S.Si., terima kasih sudah berjuang bersama sejak semester awal perkuliahan sampai sekarang, menjadi sumber kebahagiaan dan penyemangat penulis dengan memberikan semangat, hiburan tiada henti sehingga kehidupan perkuliahan penulis lebih menyenangkan.
18. Seluruh teman teman KODOK yang telah memberikan *support* dan menemani penulis.
19. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, yang telah memberikan dukungan dalam berbagai bentuk selama proses penyusunan skripsi ini.
20. Andra Fahreza Dwi Saputra, diri saya sendiri. Apresiasi sebesar-sebesarnya yang telah berjuang untuk menyelesaikan apa yang telah dimulai. Sulit bisa bertahan sampai dititik ini, terima kasih untuk tetap hidup dan merayakan dirimu sendiri, walaupun sering kali putus asa atas apa yang sedang diusahakan. Tetaplah jadi manusia yang mau berusaha dan tidak lelah untuk mencoba.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis menyadari masih banyak kekurangan, mengingat keterbatasan penulis dalam pengetahuan, kemampuan, pengalaman, dan waktu. Namun inilah yang terbaik yang dapat penulis lakukan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Bandar Lampung, 13 Oktober 2025

Penulis,

Andra Fahreza Dwi Saputra

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	4
1.3 Manfaat	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Kelapa sawit.....	5
2.2 CPO.....	7
2.3 Asam Lemak Bebas	7
2.4 Vitamin E	8
2.5 Tokoferol.....	9
2.6 Saponifikasi	10
2.7 Ekstraksi	11
2.8 Kromatografi Kolom	12
2.9 Kromatografi Lapis Tipis.....	13
2.10 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	14
2.10.1 Instrumentasi High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	15
2.10.2 Teknik Pemisahan dalam High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	18
2.11 Spektrofotometri UV-Visible	19
2.11.1 Prinsip Dasar Spektrofotometri UV-Vis	19
2.11.2 Hukum Lambert-Beer.....	20
2.11.3 Instrumentasi UV-Vis	20
III. METODE PENELITIAN	22
3.1 Waktu dan Tempat	22
3.2 Alat dan Bahan.....	22

3.3 Prosedur Penelitian	23
3.3.1 Saponifikasi	23
3.3.2 Pemisahan	23
3.3.3 Kromatografi Kolom	23
3.3.4 Kromatografi Lapis Tipis.....	24
3.4 Analisis Kualitatif HACPO Dengan <i>High Perfomance Liquid Chromathography</i> (HPLC)	24
3.5 Spektrofotometri Uv-Visible	25
3.5.1 Pembuatan Kurva Kalibrasi	25
3.5.2 Pengukuran Kadar Vitamin E.....	25
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1 Saponifikasi	27
4.2 Pemisahan	28
4.3 Kromatografi Kolom	30
4.4 Optimasi Fase Gerak Kromatografi Lapis Tipis Analisis Vitamin E (Tokoferol).....	31
4.5 Uji Kualitatif Menggunakan High Performance Liquid Chromatography (HPLC).....	34
4.6 Uji Kuantitatif Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis	36
4.6.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	36
4.6.2 Penentuan Kadar Sampel Tokoferol.....	38
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	41
5.1 Simpulan	41
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA.....	43
LAMPIRAN.....	49

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Perbandingan Nilai Rf Standar Dengan Sampel	33
2. Penentuan Regresi Linear	38
3 Data Konsentrasi Sampel	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Buah Kelapa Sawit.....	6
2. Struktur Kimia Tokoferol.....	10
3. Diagram dan Komponen HPLC	16
4. Instrumen Spektrofotometer UV-Vis	20
5. Proses Dispersi	21
6. Diagram Alir Penelitian.....	26
7. Hasil Proses Saponifikasi	27
8. Hasil Proses Ekstraksi	30
9. Pemisahan Kolom Kromatografi Heksan:Dietil Eter (a) Proses Elusi, (b) Fraksi Hasil Pemisahan	30
10.Hasil KLT Sample 9:1 (a) UV 254, (b) UV 366, (c) Visualisasi dengan reagen liebermann–burchard.....	32
11. KLT Standar Tokoferol dan Hasil Kolom (a) Uv 254, (b)366, (c) Visualisasi.33	
12. Kromatogram Standar Acuam Vitamin E	37
13. Kromatogram Standar Vitamin E	37
14. Kromatogram Hasil Analisis Sampel.....	39
15. Spektrum panjang gelombang standar tokoferol	37

16. Spektrum panjang gelombang Sampel.....	37
17. Kurva Kalibrasi Standar Tokoferol	39
18. Kromatografi Lapis Tipis (a) Visualisasi sinar UV 254 nm; (b) Visualisasi UV 366 nm; (c) Visualisasi pereaksi Liebermann–burchard.	52
19. Kromatografi Lapis Tipis (a) Visualisasi sinar UV 254 nm; (b) Visualisasi UV 366 nm; (c) Visualisasi pereaksi Liebermann–burchard.	52
20. Kromatografi Lapis Tipis (a) Visualisasi sinar UV 254 nm; (b) Visualisasi UV 366 nm; (c) Visualisasi pereaksi Liebermann–burchard.	52
21. Kromatografi Lapis Tipis (a) Visualisasi sinar UV 254 nm; (b) Visualisasi UV 366 nm; (c) Visualisasi pereaksi Liebermann–burchard.	53
22. Panjang Gelombang Maksimum (a)Standar Tokoferol, (b) sampel.....	54

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Minyak kelapa sawit (*Crude Palm Oil*, CPO) merupakan salah satu minyak nabati yang paling banyak diproduksi dan dikonsumsi di dunia. Minyak ini diekstrak dari buah tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis*) dan banyak digunakan dalam berbagai industri, termasuk industri pangan, kosmetik, dan biodiesel. Minyak kelapa sawit memiliki keunggulan dalam hal produktivitas, dengan hasil panen yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman penghasil minyak lainnya seperti kedelai atau bunga matahari (Basiron, 2007). Selain itu, minyak sawit juga mengandung beragam komponen bioaktif yang penting, seperti vitamin E, karotenoid, dan sterol.

Vitamin E merupakan komponen bioaktif penting yang terdapat dalam minyak kelapa sawit. Pemisahan dan pemurnian vitamin E dari minyak kelapa sawit mentah (*crude palm oil*) menjadi tantangan tersendiri dalam industri pengolahan minyak sawit. Salah satu faktor yang mempengaruhi efisiensi pemisahan vitamin E adalah keberadaan *Free Fatty Acids* (FFA) dalam minyak mentah. Vitamin E dalam minyak sawit hadir dalam dua bentuk utama, yaitu tokoferol dan tokotrienol. Kedua senyawa ini memiliki sifat antioksidan yang kuat dan dapat membantu melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan oksidatif. Tokotrienol, khususnya, telah terbukti memiliki potensi lebih tinggi dalam menangkal radikal bebas dibandingkan tokoferol (Sen *et al.*, 2006).

Hal ini menjadikan minyak sawit sebagai sumber yang kaya akan nutrisi dan komponen bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan.

Tokoferol, salah satu komponen utama vitamin E, adalah antioksidan alami yang terdapat dalam berbagai sumber nabati, termasuk minyak kelapa sawit (*Crude Palm Oil = CPO*). Tokoferol dan tokotrienol berfungsi melindungi sel dari kerusakan oksidatif akibat radikal bebas, menjadikannya komponen penting dalam pencegahan penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit kardiovaskular, dan penuaan dini (Harlen *et al.*, 2018). Tokoferol pada minyak sawit mencakup empat isomer utama: α -, β -, γ -, dan δ -tokoferol, dengan α -tokoferol sebagai yang paling melimpah dan aktif secara biologis. Selain sifat antioksidannya, tokoferol juga berperan dalam menjaga stabilitas minyak selama penyimpanan dan pengolahan, yang sangat penting karena minyak yang mudah teroksidasi akan menurun kualitasnya, baik dari segi rasa, bau, maupun kandungan nutrisi (Hilma *et al.*, 2018).

Tingginya kandungan *Free Fatty Acid* (FFA) pada *High Acid Crude Palm Oil* (HACPO) menjadi masalah besar bagi industri pengolahan minyak karena kelebihan FFA mempercepat proses oksidasi minyak sehingga dapat menurunkan kualitas dan stabilitasnya. Oksidasi ini tidak hanya menghasilkan bau dan rasa yang tidak sedap tetapi juga menurunkan nilai gizi minyak, terutama kandungan vitamin E seperti tokoferol dan tokotrienol, yang memiliki sifat antioksidan dan merupakan komponen penting. Dari segi ekonomi, HACPO lebih sulit diolah dibandingkan minyak sawit yang rendah FFA (Edyson *et al.*, 2022).

Free Fatty Acid (FFA) dapat mempengaruhi proses pemisahan vitamin E melalui beberapa mekanisme. Pertama, FFA dapat berinteraksi dengan molekul vitamin E, membentuk kompleks yang mempengaruhi kelarutannya dalam fase minyak atau pelarut yang digunakan dalam proses pemisahan. Kedua, tingginya kadar FFA dapat mempengaruhi polaritas minyak, yang pada gilirannya berdampak pada distribusi vitamin E antara fase minyak dan fase lain dalam proses ekstraksi (Kushairi *et al.*, 2019).

Proses saponifikasi dalam pemisahan vitamin E dari minyak sawit merupakan tahap kritis yang memainkan peran penting dalam pemisahan dan pangan. Namun, pemisahan dan pemurnian vitamin E dari matriks minyak yang kompleks memerlukan pendekatan yang cermat. Oleh karena itu, saponifikasi menjadi salah satu metode kunci dalam proses ini (Mei *et al.*, 2004).

Saponifikasi yang dilakukan pada penelitian ini adalah pemisahan vitamin E dari minyak sawit melibatkan hidrolisis trigliserida menjadi *Free fatty acid* dan gliserol dalam kondisi basa. Proses ini bertujuan untuk memecah struktur trigliserida yang mengikat vitamin E, sehingga memungkinkan ekstraksi vitamin E yang lebih efisien. Keunikan minyak sawit terletak pada kandungan tokotrienolnya yang tinggi, yang memiliki bioaktivitas yang lebih kuat dibandingkan tokoferol (Teixeira *et al.*, 2013).

Salah satu metode untuk analisis tokoferol adalah dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Prinsip dasar HPLC melibatkan pemisahan komponen-komponen sampel berdasarkan interaksi mereka dengan fase diam (kolom) dan fase gerak (eluen). Sampel diinjeksikan ke dalam aliran fase gerak yang dipompa melalui kolom pada tekanan tinggi. Perbedaan afinitas komponen-komponen sampel terhadap fase diam dan fase gerak menghasilkan pemisahan seiring perjalanan mereka melalui kolom. Komponen yang memiliki interaksi lebih kuat dengan fase diam akan tertahan lebih lama di kolom, sementara yang memiliki interaksi lebih lemah akan terelusi lebih cepat (Dong, 2019).

Berdasarkan hal diatas penelitian ini dilakukan pemisahan dan pemurnian tokoferol dari *High Acid Crude Palm Oil* (HACPO) dengan menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Proses pemisahan tokoferol dilakukan dengan metode saponifikasi kemudian ekstraksi cair-cair dengan menggunakan pelarut non-polar, setelah didapatkan ekstrak dilakukan analisis kualitatif dengan menggunakan HPLC lalu dianalisis kadar tokoferolnya menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

1.2 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mendapatkan senyawa tokoferol dalam *High Acid Crude Palm Oil* (HACPO) dan analisa menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).
2. Menentukan kadar tokoferol pada HACPO.

1.3 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk :

1. Memberikan informasi mengenai rendemen tokoferol yang diperoleh pada HACPO yang sangat penting untuk aplikasi farmasetikal, nutrasetikal, dan kosmesetikal.
2. Mendukung keberlanjutan dalam industri minyak kelapa sawit dengan memanfaatkan limbah HACPO untuk menghasilkan senyawa bioaktif.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kelapa sawit

Perkebunan kelapa sawit di Indonesia berkembang pesat, mencerminkan revolusi perkebunan kelapa sawit. Perkebunan kelapa sawit di Indonesia berkembang di 22 dari 33 provinsi di Indonesia. Dua pulau besar yang menjadi pusat perkebunan kelapa sawit di Indonesia adalah Sumatera dan Kalimantan. Sekitar 90% perkebunan kelapa sawit di Indonesia berlokasi di kedua pulau kelapa sawit ini, dan kedua pulau ini menghasilkan 95% minyak sawit (CPO) Indonesia. Pada kurun waktu 1990-2015 terjadi revolusi perkebunan kelapa sawit di Indonesia yang ditandai dengan pesatnya pertumbuhan dan perluasan perkebunan kecil yaitu sebesar 24% per tahun selama tahun 1990-2015. Pada tahun 2015, luas perkebunan kelapa sawit di Indonesia adalah 11,3 juta hektar (Saragih *et al.*, 2020), dan akan mencapai 16 juta hektar pada tahun 2017. Saat ini, sektor yang terbesar adalah perkebunan daerah dengan 53 persen, diikuti oleh swasta peternakan. dan 42 persen dan peternakan pemerintah sebesar 5 persen. Pada tahun 2017, produksi CPO Indonesia mencapai 42 juta ton (Thakur *et al.*, 2024).

Kelapa sawit adalah suatu komoditas perkebunan unggulan dan sangat penting bagi Indonesia. Tanaman kelapa sawit memiliki produk utamanya yang terdiri dari minyak sawit (CPO) dan *palm kernel oil* (PKO), memiliki nilai ekonomis tinggi dan menjadi penyumbang devisa negara yang terbesar dibandingkan dengan komoditas perkebunan lainnya. Sampai saat ini kelapa sawit telah diupayakan dalam bentuk perkebunan dan pabrik pengolahan kelapa sawit hingga menjadi minyak dan produk turunannya. Minyak kelapa sawit dapat menghasilkan

berbagai produk turunan yang kaya manfaat sehingga bisa dimanfaatkan di berbagai industri. Mulai dari industri makanan, farmasi, sampai industri kosmetik. Bahkan, limbahnya pun dapat dimanfaatkan untuk industri mebel, oleokimia, hingga pakan ternak. Oleh karena itu, kelapa sawit memiliki arti penting bagi perekonomian di Indonesia (Fauzi, 2006).



Gambar 1. Buah Kelapa Sawit (Sumber : bknsagro.com)

Kelapa sawit memiliki empat subsistem yang berbeda, keempat subsistem itu memiliki fungsi yang berbeda tetapi merupakan suatu kesatuan sistemik ekonomi. Yang pertama, subsistem hulu kelapa sawit menghasilkan barang modal untuk bisnis perkebunan kelapa sawit, seperti benih, pupuk, pestisida, dan mesin perkebunan. Kedua, subsistem usaha kelapa sawit yang menggunakan barang modal tersebut untuk budidaya. Ketiga, subsistem hilir kelapa sawit mengolah minyak sawit murni (CPO) dan *Palm Kernel Oil* (PKO) menjadi produk setengah jadi (*semi-finish*) dan produk jadi (*finish-product*). Keempat, subsistem penyedia jasa bagi subsistem hulu hingga hilir kelapa sawit (Sipayung, 2015). Minyak sawit dapat digunakan sebagai pengganti lemak-trans karena minyak sawit adalah salah satu lemak nabati jenuh yang berbentuk semi-padat pada suhu kamar dan relatif murah. Proses produksi yang dilakukan di pabrik kelapa sawit (PKS) diawali dengan mengolah bahan baku Tandan Buah Segar (TBS) kelapa sawit sampai menjadi *Crude Palm Oil* (CPO). Proses pengolahan TBS di setiap pabrik umumnya bertujuan untuk memperoleh minyak dengan kualitas yang baik (Ihsan & Fajri, 2019).

2.2 CPO

Crude Palm Oil (CPO) merupakan sebuah turunan hasil dari produksi perkebunan kelapa sawit yang diproses melalui tahap yang panjang, CPO sendiri sangat berguna bagi masyarakat yang diolah lagi menjadi bahan kebutuhan manusia berupa minyak goreng, margarin dan sabun. *Crude Palm Oil* merupakan produk unggulan dari hasil perkebunan Indonesia (Hamzah & Santoso, 2020).

Kandungan dalam minyak sawit terdiri dari karoten, tokoferol (vitamin E), sterol, alkohol, triterpen, fosfolipida. Di antara kandungan tersebut yaitu karoten dan vitamin E yang berfungsi untuk menangkal radikal bebas yang selanjutnya juga bermanfaat untuk mencegah kanker, aterosklerosis, memperlambat proses penuaan serta mencegah penyakit degeneratif (NDRPO) (Fitriyono, 2012).

2.3 Asam Lemak Bebas

Free Fatty Acid (FFA) merupakan senyawa yang terbentuk akibat pemecahan trigliserida dalam minyak menjadi gliserol dan asam lemak. Pada minyak kelapa sawit kasar (CPO), kandungan FFA menjadi indikator penting kualitas minyak, di mana kadar FFA yang tinggi dapat menurunkan mutu minyak dan menyebabkan ketidakstabilan dalam proses penyimpanan dan pengolahan minyak lebih lanjut (Azeman *et al.*, 2015).

Penurunan kualitas CPO dapat terjadi akibat tingginya kadar FFA. Kadar FFA yang meningkat menyebabkan minyak menjadi tengik serta mengalami perubahan rasa dan warna. Salah satu penyebab tingginya kadar FFA dalam minyak adalah kerusakan morfologi dan keberadaan mikroorganisme pada buah kelapa sawit. Kerusakan buah ini biasanya disebabkan oleh penanganan yang kurang baik selama proses pemanenan, pengangkutan, hingga penyimpanan. Buah kelapa sawit yang rusak dan berada di lingkungan kotor serta lembap mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Aktivitas mikroorganisme tersebut berkontribusi terhadap peningkatan FFA melalui produksi enzim lipase yang mempercepat

reaksi hidrolisis minyak, menghasilkan gliserol dan asam lemak bebas. Standar mutu CPO diatur melalui badan standar Indonesia yang dimuat dalam SNI-01-2901-2006. Dalam standar tersebut ditetapkan kadar air dan kadar kotoran adalah 0,5% sedangkan kadar FFA 5,0% (Nurfiqih *et al.*, 2021).

2.4 Vitamin E

Vitamin E adalah nutrisi yang penting dan memiliki keunikan tersendiri. Disebut penting karena vitamin ini memiliki sifat antioksidan, yang mampu mencegah atau memperlambat timbulnya penyakit degeneratif. Keunikannya terletak pada kenyataan bahwa meskipun digolongkan sebagai vitamin, tokoferol sebenarnya tidak berfungsi sebagai kofaktor dalam reaksi enzim, seperti halnya vitamin pada umumnya (Andarina & Djauhari, 2017).

Vitamin E adalah vitamin yang larut dalam minyak, bersifat non-toksik dan memegang peranan penting dalam berbagai fungsi fisiologis seperti fungsi reproduksi, sistem imun, fungsi syaraf serta otot. Vitamin E juga berperan sebagai antioksidan yang membantu melindungi tubuh dari efek radikal bebas. Vitamin E secara alami hanya disintesis oleh tanaman dan sumber terbanyak dari vitamin E adalah jenis tanaman yang menghasilkan minyak. Semua tanaman tingkat tinggi terdapat α -tokoferol pada daun dan bagian hijau yang lainnya, sedangkan γ -tokoferol terdapat dalam kadar yang kecil. Secara kimiawi vitamin E dibagi menjadi dua kelas yakni, tokoferol dan tokotrienol, dimana setiap kelas terdiri dari empat senyawa yang larut dalam lipida yang disintesis oleh tanaman. Keempat senyawa turunan tokoferol dan tokotrienol tersebut dibedakan dengan tanda huruf Yunani yaitu α , β , γ dan σ (Hari Widada, 2013).

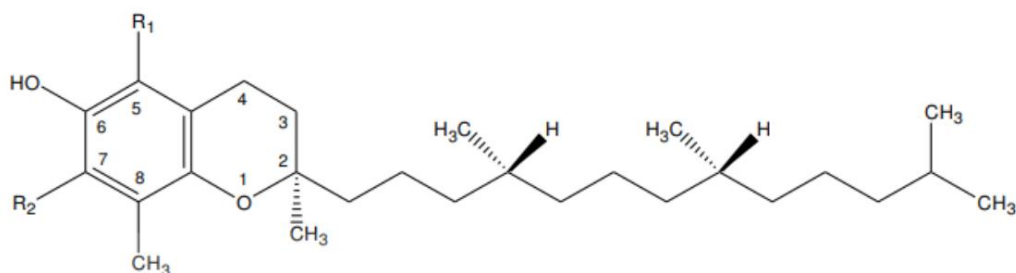
Vitamin E merupakan suatu zat antioksidan yang sangat dibutuhkan oleh tubuh manusia karena memiliki peranan penting dalam menjaga keseimbangan sel dari radikal bebas dan menghambat proses oksidasi. Radikal bebas merupakan molekul yang tidak stabil dan sangat berbahaya bagi tubuh karena dapat menyebabkan perubahan pada sel-sel tubuh yang memicu terjadinya proses

penuaan dini dan penyakit degeneratif seperti kanker. Dengan kemampuannya sebagai zat antioksidan, vitamin E dapat mengurangi resiko penyebab berbagai macam penyakit, seperti jantung dan diabetes. Selain itu vitamin E juga dapat mengurangi resiko terjadinya pembekuan darah, mencairkan darah beku, mencegah penyumbatan pembuluh darah, menguatkan dinding pembuluh darah kapiler, meningkatkan pembentukan sel-sel darah merah, mengurangi kadar gula darah, memperbaiki kerja insulin serta meningkatkan kekuatan otot dan stamina (Amelia, 2014).

Sebagai antioksidan utama dalam fase lipid tubuh, vitamin E terdiri dari 8 bentuk molekuler, 4 tokoferol dan 4 tokotrienol. Molekul tokoferol ini terdiri dari prenil hidrofobik dan kromonal polar. Kromonal terdiri atas isomer α , β , λ dan δ . Vitamin E ini banyak terdapat dalam sayuran, minyak, kacang, jagung, kedele, tepung gandum, margarin, dan daging. Vitamin E dalam bentuk α tokoferol merupakan bentuk paling aktif dan banyak digunakan. Vitamin E dalam bentuk oral yang sering dikonsumsi adalah D- α tokoferol, D- α tokoferol dan α tokoferil suksinat sedangkan untuk topikal jenis yang digunakan adalah α tokoferil asetat dan α tokoferil linoleat. Istilah tokoferol dan tokoferil hanya berbeda dari absorpsinya di mana ester tokoferol lebih sedikit absorpsinya di kulit (Andarina & Djauhari, 2017).

2.5 Tokoferol

Tokoferol adalah salah satu antioksidan fenol alami yang paling umum ditemukan dalam minyak nabati. Tokoferol memiliki aktivitas sebagai vitamin E dan mengandung banyak ikatan rangkap yang mudah teroksidasi, sehingga berperan dalam melindungi lemak dari proses oksidasi (Arpi, 2014).



Gambar 2. Struktur Kimia Tokoferol (Karpiuk *et al.*, 2018)

Sumber utama tokoferol dalam makanan termasuk minyak nabati, kacang-kacangan, biji-bijian, dan sayuran berdaun hijau. Karena tubuh manusia tidak dapat memproduksi vitamin E, asupan dari makanan atau suplemen sangat penting untuk memenuhi kebutuhan harian. alfa-tokoferol adalah yang paling aktif dan banyak ditemukan dalam makanan serta suplemen. Sebagai antioksidan, tokoferol berfungsi melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas, yang mana proses ini berhubungan dengan penuaan serta berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit kardiovaskular, dan gangguan neurodegeneratif (Colombo, 2010).

2.6 Saponifikasi

Saponifikasi merupakan salah satu metode pemurnian secara fisik. Saponifikasi dilakukan dengan menambahkan basa pada minyak yang akan dimurnikan. Sabun yang terbentuk dari proses ini dapat dipisahkan dengan penambahan basa pada proses saponifikasi akan bereaksi dengan asam lemak bebas membentuk sabun yang mengendap dengan membawa serta lendir, kotoran dan sebagian zat warna. Saponifikasi adalah suatu proses untuk memisahkan asam lemak bebas dari minyak atau lemak dengan cara mereaksikan asam lemak bebas dengan basa atau pereaksi lainnya sehingga membentuk sabun (Zulkifli and Estiasih, 2018).

Reaksi saponifikasi adalah reaksi antara trigliserida dengan alkali yang membentuk sabun dan gliserol. Prinsip dari reaksi saponifikasi yaitu tersabunkannya asam lemak dengan alkali. Asam lemak yang terdapat dalam

keadaan bebas ataupun dalam keadaan terikat sebagai minyak atau lemak (gliserida) direaksikan dengan alkali sehingga dapat menghasilkan sabun dan gliserol. (Amelia *et al.*, 2023)

2.7 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan komponen dari bahan padat atau cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus mampu mengekstraksi zat yang diinginkan tanpa melarutkan bahan lain. Peristiwa fisik yang terjadi dalam proses ekstraksi adalah perpindahan massa. Transfer massa ini terjadi karena perbedaan konsentrasi dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi yang lebih rendah. Semakin besar perbedaan konsentrasi semakin cepat perpindahan massa terjadi dan pencapaian keseimbangan (Anggista *et al.*, 2019).

Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi antara lain yaitu ukuran bahan baku, pemilihan pelarut, waktu proses ekstraksi suhu ekstraksi. Ukuran bahan baku yang kecil akan menghasilkan hasil yang rendah. Pemilihan pelarut akan mempengaruhi suhu ekstraksi dan waktu proses ekstraksi. Jika suhu tinggi, maka akan menghasilkan sisa pelarut yang tinggi pula (Damayanti *et al.*, 2012). Terdapat faktor-faktor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi, antara lain adalah jenis dan jumlah pelarut. Semakin banyak jumlah pelarut semakin banyak pula jumlah produk yang akan diperoleh, hal ini dikarenakan distribusi partikel dalam pelarut semakin menyebar, sehingga memperluas permukaan kontak, dan perbedaan konsentrasi solut dalam pelarut dan padatan semakin besar. (Mas'ud, & Pabbenteng., 2016).

Sifat pelarut yang baik untuk ekstraksi yaitu toksisitas dari pelarut yang rendah, mudah menguap pada suhu yang rendah, dapat mengekstraksi komponen senyawa dengan cepat, dapat mengawetkan dan tidak menyebabkan ekstrak terdisosiasi. Pemilihan pelarut juga akan tergantung pada senyawa yang ditargetkan. Faktor-faktor yang mempengaruhi pemilihan pelarut adalah jumlah senyawa yang akan diekstraksi, laju ekstraksi, keragaman senyawa yang akan diekstraksi, kemudahan

dalam penanganan ekstrak untuk perlakuan berikutnya, toksisitas pelarut dalam proses bioassay, potensial bahaya kesehatan dari pelarut (Tiwari, 2011).

Ekstraksi cair-cair adalah metode pemisahan kimiawi yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen dalam campuran cair berdasarkan perbedaan kelarutannya dalam dua fase pelarut yang tidak saling bercampur (misalnya air dan pelarut organik). Proses ini banyak digunakan dalam industri kimia, farmasi, dan lingkungan, terutama untuk memurnikan produk atau memisahkan zat yang diinginkan dari campuran yang kompleks (Tuhuloula *et al.*, 2013). Prinsip utama yang digunakan dalam ekstraksi cair-cair adalah Koefisien Distribusi (*Distribution Coefficient*), yaitu perbandingan konsentrasi zat terlarut antara dua fase setelah kesetimbangan tercapai (Rusdi *et al.*, 2024).

Ekstraksi cair-cair (*liquid extraction, solvent extraction*): solute dipisahkan dari cairan pembawa (diluen) menggunakan solven cair. Campuran diluen dan solven ini adalah heterogen (*immiscible*, tidak saling campur), jika dipisahkan terdapat 2 fase, yaitu fase 7 diluen (rafinat) dan fase solven (ekstrak). Perbedaan konsentrasi solute di dalam suatu fasa dengan konsentrasi pada keadaan setimbang merupakan pendorong terjadinya pelarutan (pelepasan) solute dari larutan yang ada. Gaya dorong (*driving force*) yang menyebabkan terjadinya proses ekstraksi dapat ditentukan dengan mengukur jarak system dari kondisi setimbang.

2.8 Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom adalah metode pemisahan fisik yang digunakan untuk memurnikan zat kimia dari campurannya berdasarkan perbedaan interaksi komponen dengan fase diam dan fase gerak dalam sebuah kolom. Teknik ini memanfaatkan perbedaan distribusi komponen campuran antara fase diam (biasanya zat padat seperti silika gel atau alumina) dan fase gerak (larutan pelarut) yang mengalir melalui kolom, sehingga komponen-komponen tersebut terelusi secara bertahap. (Rushikesh, 2024).

Metode kromatografi ini digunakan untuk memisahkan berbagai komponen dalam suatu campuran dengan mempertimbangkan sifat fisikokimianya, seperti polaritas dan kemampuan interaksi dengan fase padat. Kromatografi kolom banyak digunakan dalam beberapa penelitian untuk memisahkan dan mengidentifikasi senyawa-senyawa yang kompleks. Prinsip dasar dari kromatografi kolom terletak pada perbedaan absorbansi dari senyawa-senyawa campuran yang akan dipisahkan. Senyawa yang bersifat lebih polar akan lebih kuat berinteraksi dengan fase padat polar sehingga lajunya dalam kolom lebih lambat, sedangkan senyawa non-polar cenderung bergerak lebih cepat karena interaksinya yang lebih lemah (Riyanto *et al.*, 2024).

Proses pemisahan senyawa dengan kromatografi kolom dapat dipengaruhi oleh eluen, adsorben, laju alir dan diameter kolom. Pada kromatografi kolom ini menggunakan eluen yang berupa pelarut murni atau campuran beberapa jenis pelarut dengan perbandingan tertentu. Selama proses pemisahan senyawa dalam kolom yang membentuk pita serapan, mengalir keluar kolom dengan eluen, sesuai dengan tingkat kepolaran senyawanya. Metode kromatografi kolom ini memiliki beberapa kelemahan. salah satunya adalah metode ini membutuhkan jumlah volume pelarut / eluen yang cukup besar selama proses berlangsung. Selain itu, waktu elusi yang dibutuhkan untuk menyelesaikan pemisahan cukup lama. Hasil pemisahannya pun tidak dapat langsung dideteksi, karena masih memerlukan proses kromatografi lapis tipis (Kristanti *et.al.*, 2008).

2.9 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) termasuk dalam jenis kromatografi planar, merupakan suatu metode analisis yang umum digunakan untuk memisahkan campuran senyawa kimia berdasarkan distribusinya diantara dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam biasanya berupa lapisan tipis dari bahan seperti silika gel, alumina, atau selulosa yang dilapiskan pada pelat KLT. Sementara itu, fase gerak adalah pelarut tunggal atau campuran pelarut yang memungkinkan terjadinya pemisahan senyawa dalam campuran. Proses pemisahan dapat

berlangsung karena fase gerak berinteraksi dengan fasa diam dengan melalui daya kapilaritas, sehingga memungkinkan terjadinya interaksi berbeda antara komponen campuran dengan kedua fase tersebut berdasarkan kelarutan dan retensinya dalam fase diam dan fase gerak. Pemisahan terjadi karena adanya persaingan antara molekul senyawa sampel dan pelarut dalam berinteraksi atau berikatan dengan fase diam (Rafi dkk., 2014).

Pemilihan fase gerak yang tepat sangat menentukan keberhasilan analisis kromatografi lapis tipis (KLT). Sifat-sifat dari pelarut pengembang (fase gerak) merupakan faktor utama yang memengaruhi mobilitas masing-masing komponen dalam campuran. Secara umum, kemampuan pelarut untuk memindahkan senyawa di atas adsorben berkaitan erat dengan polaritas pelarut tersebut. Kemampuan ini dikenal sebagai kekuatan elusi. Urutan kekuatan elusi beberapa pelarut adalah sebagai berikut: air > metanol > etanol > aseton > etil asetat > kloroform > dietil eter > metilen klorida > benzena > toluena > karbon tetraklorida > heksan > petroleum eter (Atun, 2014).

2.10 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

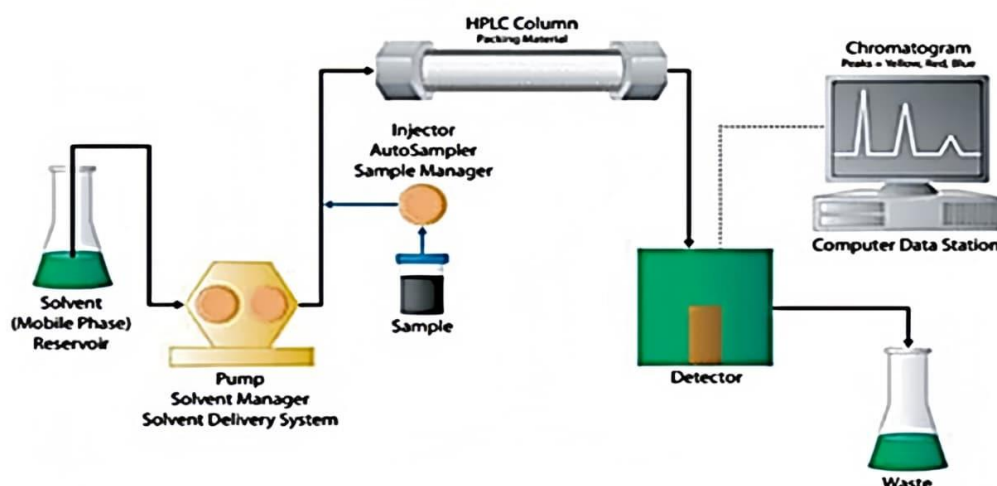
High Performance Liquid Chromatography (HPLC) atau Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) adalah salah satu instrumen yang dipakai untuk teknik analisis pemisahan secara kualitatif, kuantitatif, pemisahan/isolasi dan pemurnian. Adanya proses adsorpsi dinamis dimana molekul analit akan bergerak melewati celah berpori merupakan prinsip dasar HPLC. Material kolom (fase diam) akan berinteraksi dengan komponen sampel sehingga terjadi pemisahan. Lamanya waktu interaksi (*retention time*) dipengaruhi oleh kekuatan interaksi dari material kolom dan komponen sampel. HPLC menggunakan dua fase kerja yaitu fase gerak (*mobile phase*) dan fase diam (*stationary phase*). Fase gerak berupa cairan atau pelarut yang berfungsi untuk membawa komponen campuran menuju detektor sedangkan fase diam adalah fase tetap didalam kolom berupa partikel dengan pori yang kecil dan memiliki area *surface* tinggi (Angraini & Desmaniar, 2020).

HPLC adalah salah satu jenis teknik kromatografi cair yang digunakan untuk menganalisis berbagai komponen dalam sampel. HPLC juga digunakan dalam identifikasi dan kuantifikasi sampel dalam proses manufaktur farmasi dan telah digunakan di seluruh dunia selama beberapa dekade. Efisiensi, kecepatan, peningkatan hasil, dan pengurangan analisis bias adalah karakteristik HPLC yang penting. Tujuan penggunaan HPLC adalah untuk menganalisis sampel dalam waktu yang singkat (Safira *et al.*, 2019).

HPLC adalah metode yang sering digunakan untuk mengukur tokoferol dan tokotrienol dalam makanan, terlepas dari nutrisi lainnya. Setiap bentuk tokoferol dan tokoferol dapat dianalisis menggunakan metode HPLC, yang bekerja dengan baik menggunakan kolom fase normal maupun fase terbalik. Meskipun demikian, HPLC memiliki keterbatasan, termasuk biaya analisis yang relatif tinggi dan kebutuhan akan pengetahuan khusus secara khusus dalam proses operasi. Oleh karena itu, diperlukan suatu metode yang dapat menganalisis vitamin E dengan langkah-langkah yang mudah dipahami dan biaya analisis yang lebih ekonomis (Andulaa *et.al.*, 2017).

2.10.1 Instrumentasi High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Pada HPLC, analit dipisahkan berdasarkan perbedaan afinitas antara komponen senyawa dengan fase diam dan fase gerak. Instrumentasi pada HPLC umumnya terdiri atas wadah fase gerak, sistem penghantaran fase gerak, tempat untuk penyuntikan sampel, kolom atau fase diam, detektor, wadah penampung buangan fase gerak, tabung penghubung dan komputer atau perekam data (Sudjaji, 2007).



Gambar 3. Diagram dan Komponen HPLC (Angraini & Desmaniar, 2020)

Penjelasan komponen-komponen HPLC adalah sebagai berikut :

1. Wadah Pelarut (*Reservoir*)

Wadah pelarut yang paling umum digunakan dalam sistem HPLC biasanya berupa botol kaca sederhana yang dihubungkan ke saluran masuk pompa menggunakan tabung. Untuk menghilangkan gas-gas yang terlarut dalam pelarut, digunakan alat yang disebut *degasser*. *Degasser* ini dapat terdiri dari berbagai komponen, seperti sistem pompa vakum, unit distilasi, serta perangkat pemanas dan pengaduk yang membantu mempercepat pelepasan gas. Selain itu, *degasser* juga dapat menggunakan sistem *sparging*, yaitu metode di mana gelembung halus dari gas *inert* dialirkan ke dalam pelarut untuk mengusir gas-gas terlarut. Sistem ini umumnya juga dilengkapi dengan penyaring guna menghilangkan debu dan partikel padat dari pelarut sebelum digunakan dalam analisis (Abdu Hussen, 2022).

2. Fase Gerak

Fase gerak atau eluen biasanya terdiri atas campuran pelarut yang dapat bercampur yang secara keseluruhan berperan dalam daya elusi dan resolusi. Daya elusi dan resolusi ini ditentukan oleh polaritas keseluruhan pelarut, polaritas fase diam, dan sifat komponen-komponen sampel. Fase gerak merupakan salah satu variabel yang mempengaruhi pemisahan. Oleh karena itu, fase gerak harus murni (tidak ada pengotor), non-reaktif dengan wadah, cocok untuk detektor, mampu melarutkan sampel dan viskositas rendah untuk

memudahkan pengambilan sampel, serta dapat diperoleh dengan biaya lebih rendah (Kurniawati, 2016).

3. Pompa

Pompa berperan untuk memasukkan cairan yang disebut fase gerak melewati kromatografi cair dengan laju alir tertentu, biasanya dinyatakan dalam mililiter per menit (mL/menit). Pada HPLC, laju alir normal berada dalam kisaran 1 hingga 2 mL/menit, dan pompa yang digunakan umumnya mampu menghasilkan tekanan antara 6000 hingga 9000 psi (400 hingga 600 bar). Selama proses kromatografi, pompa dapat mengalirkan fase gerak dengan komposisi yang tetap (isokratik) atau dengan komposisi yang berubah secara bertahap (gradien), tergantung pada kebutuhan analisis (Mochida & Kawamoto, 2023).

4. Injektor

Injektor memiliki fungsi utama untuk memasukkan sampel cair ke dalam aliran fase gerak dalam sistem. Umumnya, volume sampel yang digunakan berada dalam kisaran 5 hingga 20 mikroliter (μL). Karena bekerja dalam sistem bertekanan tinggi, injektor harus dirancang agar tahan terhadap tekanan tersebut. Untuk mempermudah proses analisis, terutama saat jumlah sampel banyak atau penyuntikan manual tidak memungkinkan, digunakan alat otomatis yang disebut autosampler (Mochida & Kawamoto, 2023).

5. Kolom

Kolom terbuat dari bahan baja anti karat (*stainless steel*), memiliki panjang 59 sampai 300 mm, diameternya berkisar antara 2 hingga 5 mm. Pada kolom terdapat fase diam yang berfungsi untuk memisahkan komponen-komponen sampel. Partikel-partikel kecil di dalam kolom inilah yang dapat membuat tekanan balik tinggi pada laju alir normal. Pompa harus dapat mendorong fase gerak melewati kolom dan mengatasi hambatan (Abdu Hussen, 2022).

6. Detektor

Detektor berfungsi untuk mendeteksi molekul-molekul yang keluar (elusi) dari kolom. Detektor juga digunakan untuk mengukur jumlah molekul untuk dapat melakukan analisis kuantitatif terhadap sampel. Cara kerja detektor dengan

menghasilkan sinyal keluaran yang dikirim ke komputer lalu ditampilkan sebagai kromatogram (Mochida & Kawamoto, 2023).

7. Komputer

Komputer berfungsi untuk mengolah respon detektor terhadap setiap komponen, lalu memberikan data dalam bentuk kromatogram yang dapat dipahami. Komputer tidak hanya berperan untuk mengontrol alat HPLC, tetapi juga dapat memanfaatkan sinyal dari detektor untuk menentukan waktu keluarnya (elusi) pada masing-masing sampel yang dapat digunakan dalam analisis kualitatif (Abdu Hussen, 2022).

2.10.2 Teknik Pemisahan dalam High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Pemisahan dalam sistem HPLC dapat terjadi akibat adanya perbedaan partisi, ukuran molekul, atau ukuran ion pada komponen yang dibawa oleh fase gerak melalui fase diam. Terdapat dua jenis teknik kromatografi berdasarkan jenis kepolaran fase geraknya, yaitu:

1. Fase Normal

Pada dasarnya, jenis HPLC ini mirip dengan kromatografi kolom. Kolom ini diisi dengan partikel silika yang sangat kecil dan pelarut non-polar seperti heksana. Kolom tunggal memiliki diameter dalam sekitar 4,6 mm dan panjang 120 nm hingga 250 nm. Molekul polar dalam sampel melekat pada silika lebih lama daripada molekul non-polar. Oleh karena itu, molekul non-polar akan melewati kolom lebih cepat (Gandjar & Rohman, 2010).

2. Fase Terbalik

Pada HPLC ini ukuran kolom yang digunakan sama dengan fasa normal, tetapi silika diubah menjadi non-polar dengan menempelkan hidrokarbon rantai panjang pada permukaannya (seperti C8 atau C18). Dalam hal ini, molekul polar sampel tidak akan terlalu lama melekat pada rantai hidrokarbon. Oleh karena itu, molekul polar akan bergerak lebih cepat melalui kolom, sedangkan molekul non-polar akan bergerak lebih lambat karena berinteraksi kuat dengan gugus hidrokarbon (Gandjar & Rohman, 2010).

2.11 Spektrofotometri UV-Visible

Spektrofotometri serapan *ultraviolet* dan visibel merupakan teknik yang bergantung pada pengukuran pelemahan radiasi elektromagnetik oleh zat penyerap. Radiasi ini berada dalam rentang spektrum sekitar 190–800 nm, yang juga bervariasi dalam hal energi dan jenis eksitasi terkait. Pelemahan ini dapat terjadi akibat pantulan, hamburan, penyerapan, atau interferensi. Meskipun demikian, pengukuran pelemahan yang akurat dapat dilakukan melalui pencatatan. Fungsi detektor UV-Vis adalah mengubah sinyal cahaya menjadi sinyal listrik. Detektor ideal harus mampu merespon dalam rentang panjang gelombang yang luas, memiliki sensitivitas tinggi dengan noise rendah, rentang respon linier, respon cepat, memungkinkan miniaturisasi dan membutuhkan sedikit sampel (Nurulhadi *et al.*, 2024).

Pengukuran panjang gelombang dan absorbansi analit menggunakan alat spektrofotometer melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis. Sehingga spektrofotometer UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan dengan analisis kualitatif. Spektrum UV-Vis sangat berguna dalam pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum *Lambert-Beer* (Day & Underwood, 2002).

2.11.1 Prinsip Dasar Spektrofotometri UV-Vis

Prinsip dasar spektrofotometri UV-Vis melibatkan absorpsi energi radiasi oleh molekul, yang menyebabkan eksitasi elektron dari orbital dasar ke orbital yang lebih tinggi. Intensitas absorpsi bergantung pada struktur elektronik molekul, konsentrasi analit, dan panjang lintasan cahaya melalui sampel. Hubungan antara absorbansi dan konsentrasi analit dinyatakan dalam Hukum *Lambert-Beer*, yang menjadi dasar analisis kuantitatif menggunakan teknik ini (Kus *et al.*, 1996).

2.11.2 Hukum Lambert-Beer

Hukum *Lambert-Beer* menyatakan bahwa jumlah radiasi cahaya tampak, ultraviolet dan cahaya-cahaya lain yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat dan tebal larutan. Hukum ini secara sederhana dapat dinyatakan dalam rumus berikut

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Keterangan :

A = absorban (daya serap)

ϵ = absorbtivitas molar (L/mol cm)

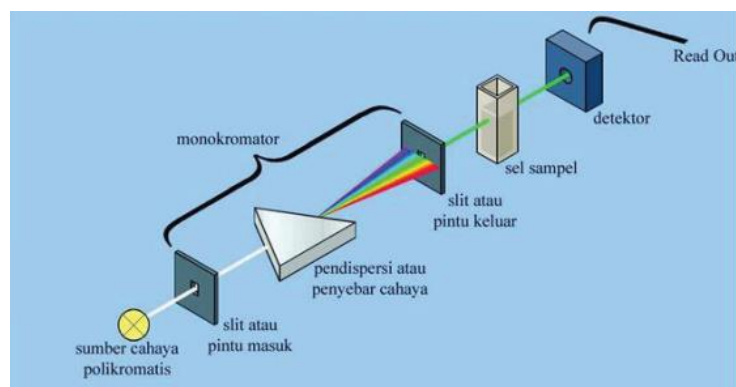
b = lebar kuvet (cm)

C = konsentrasi larutan (mol/cm)

Aspek kuantitatif pada spektrofotometri didasari oleh hukum Lambert-Beer, yang menjelaskan bahwa konsentrasi sampel dapat dihitung menggunakan rumus pada hukum Lambert-Beer. Absorbtivitas (A) adalah nilai yang bergantung pada ketebalan kuvet, konsentrasi sampel dan intensitas yang mengenai larutan (Fajri *et al.*, 2024).

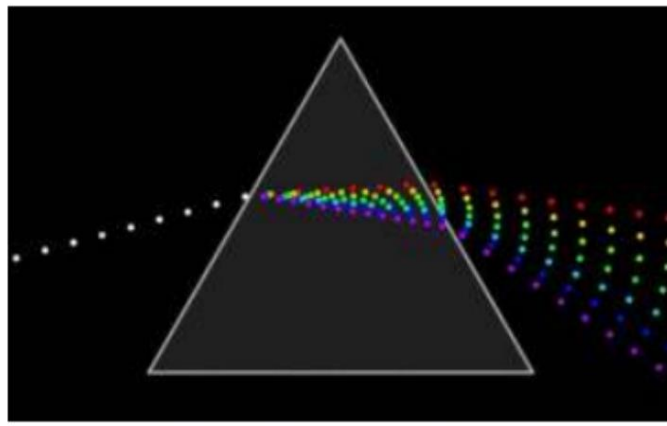
2.11.3 Instrumentasi UV-Vis

Secara sederhana instrument spektrofotometri yang disebut spektrofotometer terdiri dari :



Gambar 4. Instrumen Spektrofotometer UV-Vis (Putri, 2017)

1. Sumber sinar polikromatis berfungsi sebagai sumber sinar dengan berbagai macam rentang panjang gelombang.
2. Monokromator berfungsi sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Pada Gambar 4 disebut sebagai pendispersi atau penyebar cahaya. dengan adanya pendispersi hanya satu jenis cahaya atau cahaya dengan panjang gelombang tunggal yang mengenai sel sampel. Pada Gambar 4 hanya cahaya hijau yang melewati pintu keluar. Proses dispersi atau penyebaran cahaya seperti tertera pada Gambar 5 :



Gambar 5. Proses Dispersi (Putri, 2017)

3. Sel sampel berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel UV, VIS dan UV-VIS menggunakan kuvet sebagai tempat sampel. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau gelas.
4. Detektor berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik.
5. *Read out* merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detektor (Putri, 2017).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Oktober 2024 sampai Mei 2025. Preparasi sampel dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung, serta analisis *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) di Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Adapun alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas ukur, erlenmeyer, gelas beaker, labu ukur, labu bundar, pipet volume, corong pisah, thermometer, chamber, plat KLT besi, pipa kapiler, klem, statif, neraca analitik (AND), *magnetic stirrer hot plate* (ARGO LAB M3-D), kromatografi kolom, lampu UV Kohler/SN402006, Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1780) dan High Performance Liquid Chromatography (Shimadzu LabSolutions)

Adapun bahan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel *High Acid Crude Palm Oil* (HACPO) dari PT. Jaya Agro Mandiri, etanol (C_2H_5OH), natrium hidroksida (NaOH), *butylated hydroxytoluene* (BHT), natrium klorida (NaCl), metanol (MeOH), n Heksan, 1% 2-propanol (*p.a*), silika gel 60 ukuran 0,063 – 0,200 mm atau 70-230 mesh, etil asetat (EtOAc), eter, aseton, asetonitril (HPLC grade), asam sulfat (*p.a*) (H_2SO_4), asam asetat glasial (*p.a*) (HOAc), standar tokoferol 96% (E.Merck) dan aquades

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Saponifikasi

High Acid Crude Palm Oil (HACPO) sebanyak 10 g dimasukkan ke dalam Erlenmeyer kemudian ditambahkan 10 mL etanol (95%), 30 mL NaOH 0,25 M, dan 25 mL BHT 0,3 M lalu ditutup dengan *aluminium foil* setelah itu dipanaskan di atas penangas air pada suhu 40°C sambil diaduk selama 30 menit. Campuran lalu didinginkan pada suhu 5-10°C, kemudian ditambahkan larutan NaCl 0,02 M sebanyak 75 mL (Furi *et al.*, 2022).

3.3.2 Pemisahan

Campuran dimasukkan ke dalam corong pisah, bagian atas adalah fraksi minyak yang tak tersabunkan, bagian tengah adalah fraksi minyak yang tersabunkan dan bagian bawah adalah fraksi air selanjutnya, fraksi minyak yang tak tersabunkan yang sudah dipisahkan ditambahkan dengan 35 mL metanol dan didiamkan hingga terbagi menjadi dua fraksi. Bagian atas diambil dan ditambahkan dengan 10 mL n-heksan *p.a.* lalu diambil bagian atas) kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C untuk dihilangkan n-heksananya (Furi *et al.*, 2022).

3.3.3 Kromatografi Kolom

Sampel dilarutkan dalam 1 mL heksana 100%, untuk dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom (diameter 0,5 cm x panjang 14,7 cm). Fase diam yang digunakan adalah *silica gel* 60 dengan ukuran partikel (0,063-0,200 mm) yang telah diaktifkan dalam heksana 100% selama semalaman. Sebanyak 0,5 g sampel dimasukkan ke dalam kromatografi kolom yang telah diisi *silica gel* 60, sedangkan fase gerak pada awalnya dielusi dengan heksana 100% selanjutnya dielusi lagi dengan heksana: dietil eter (95% :5% v/v). Sampel ditampung

berdasarkan perubahan warna larutan dari kuning menjadi bening (Lodu dan Karwur, 2017).

3.3.4 Kromatografi Lapis Tipis

Sample hasil kolom kromatografi diaplikasikan pada plat silika gel 60 dengan penopang alumunium yang digunakan sebagai fase diam. Analisis kromatografi lapis tipis dilakukan dengan bantuan pipa kapiler kaca dengan penotolan 5-10 kali. Pelat KLT dimasukkan ke dalam ruang kaca (chamber) dan dielusi dengan fase gerak. Fase gerak yang digunakan adalah heksan dan etil asetat dengan perbandingan 7:3. Visualisasi pita yang dihasilkan oleh konstituen yang tidak teramati pada wilayah tampak dilakukan dengan sinar UV dengan panjang gelombang pendek 254 nm dan panjang gelombang panjang 366 nm. Untuk senyawa yang tidak memancarkan fluoresensi pada sinar UV, visualisasi pita dilakukan dengan menyemprotkan larutan reagen. Reagen yang digunakan yaitu reagen liebermann–burchard yang dibuat dengan mencampurkan dengan H_2SO_4 ditambah dengan asam asetat glasial. reagen disemprot ke pelat KLT untuk mewarnai pita senyawa. (Albuquerque *et al.*, 2015).

3.4 Analisis Kualitatif HACPO Dengan *High Perfomance Liquid Chromathography* (HPLC)

Sampel ekstrak HACPO yang telah tersaponifikasi disaring dengan membran filter PTFE 0,2 μm kemudian diinjeksikan sebanyak 20 μL pada sistem HPLC dengan perbandingan fase gerak perbandingan 86:14 (asetonitiril:air) dan laju alir (1ml/menit). Sampel dinyatakan mengandung vitamin E dengan membandingkan waktu retensi sampel dan baku standar kromatogram pada penelitian terdahulu. (Furi *et al.*, 2022).

3.5 Spektrofotometri UV-Visible

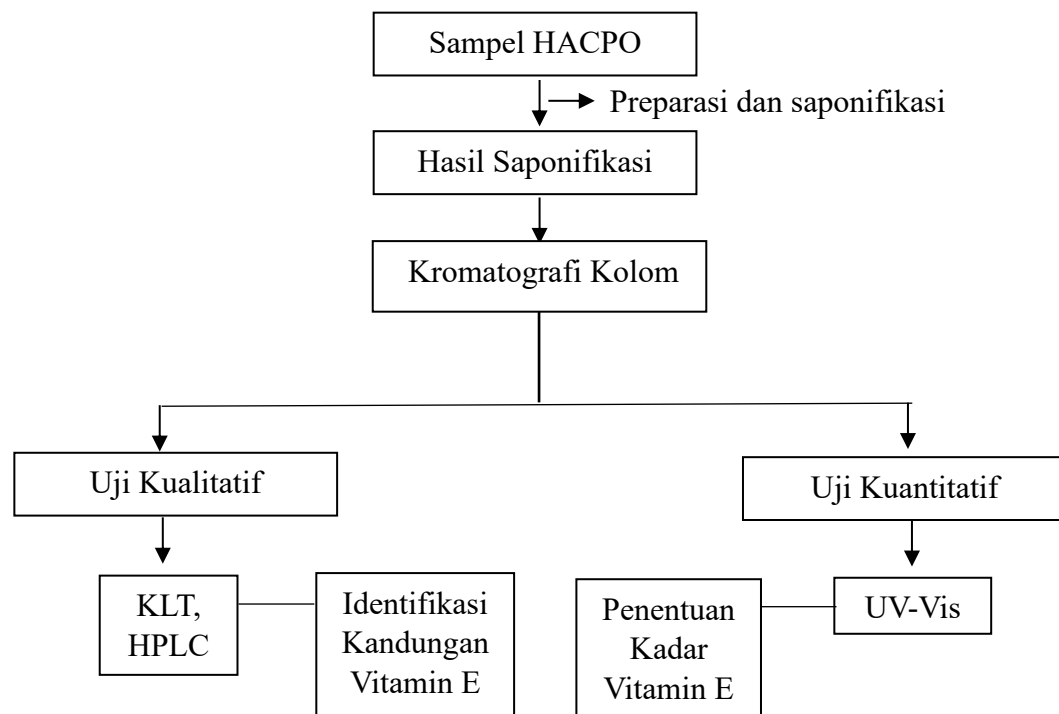
3.5.1 Pembuatan Kurva Kalibrasi

Pembuatan kurva kalibrasi Vitamin E standar larutan baku tokoferol dengan konsentrasi 96% v/v, dibuat menjadi larutan induk baku 10.000 ppm lalu diencerkan dengan metanol menjadi larutan induk baku 100 ppm. Selanjutnya, deret larutan standar dibuat dengan variasi konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm, kemudian diukur absorbansinya dengan panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometri UV-Vis (*Furi et al.*, 2022).

3.5.2 Pengukuran Kadar Vitamin E

Penentuan kadar Vitamin E sampel hasil ekstraksi HACPO yang telah tersaponifikasi dan dihilangkan n-heksannya dilakukan menggunakan spektrometri UV-Vis dengan menggunakan acuan standar kurva kalibrasi yang sudah dibuat (*Furi et al.*, 2022).

Bagan alir dari penelitian ini adalah sebagai berikut :



Gambar 6. Diagram Alir Penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Telah berhasil dipisahkan tokoferol dari HACPO yang dibuktikan dengan analisis KLT, HPLC dan spektrofotometri Uv-Vis. Hasil kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan bahwa sampel tokoferol memiliki nilai R_f yang sama dengan standar tokoferol, analisis HPLC menunjukkan waktu retensi 4,1 menit yang mendekati waktu retensi standar tokoferol dan analisis spektrofotometri Uv-Vis pada penentuan panjang gelombang maksimum diperoleh sebesar 289 nm mendekati panjang gelombang maksimum pada standar vitamin E sebesar 287nm.
2. Hasil pengukuran kadar vitamin E pada metode spektrofotometri UV-Vis sebesar 68,25 ppm.

5.2 Saran

Penelitian selanjutnya disarankan melakukan optimasi lebih lanjut pada proses pemisahan dan pemurnian, untuk mendapatkan hasil pemurnian tokoferol yang lebih maksimal dan murni, khususnya pada pemilihan jenis dan komposisi eluen pada proses kromatografi kolom.

DAFTAR PUSTAKA

- Albuquerque.C. L. C., Ádina.L. S., and Angela A. M. 2015. Thin layer Chromatographic Analysis Of Annatto Extracts Obtained Using Supercritical Fluid. *Food and Public Health*. 5(4): 127–137.
- Amelia, R. E., Hasibuan, R., and Irvan. 2023. Pemanfaatan Tandan Pisang Kepok Sebagai Sumber Alkali Pada Pembuatan Sabun Cair. *Jurnal Teknik Kimia USU*. 12(1): 18–23.
- Amelia, P. 2014. Analisis A-Tokoferol (Vitamin E) pada Minyak Biji Kelor (*Moringa oleifera Lam.*) secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Jurnal Kimia VALENSI*.4(2): 142–147.
- Andarina, R., and Djauhari, T. 2017. Antioksidan Dalam Dermatologi. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*. 4(1): 39–48.
- Andulaa, A.M., Ruslan., Hardi, Ys., and Dwi, J.P. 2017. Studi Perbandingan Analisis Vitamin E Minyak Sawit Merah Tersaponifikasi Antara Metode Spektrofotometri UV-Vis Dan KCKT. *Kovalen: Jurnal Riset Kimia*. 3(10): 50–57.
- Anggista, G., Pangestu, I. T., Handayani, D., Yulianto, M. E., and Astuti, S. K. 2019. Penentuan Faktor Berpengaruh Pada Ekstraksi Rimpang Jahe Menggunakan Extraktor Berpengaduk. *Gema Teknologi*.20(3): 80.
- Angraini, N., and Desmaniar, P. 2020. Optimasi penggunaan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Untuk Analisis Asam Askorbat Guna Menunjang Kegiatan Praktikum Bioteknologi Kelautan. *Jurnal Penelitian Sains*.22(2): 69.
- Arpi, N. 2014. Kombinasi Antioksidan Alami α -tokoferol Dengan Asam Askorbat dan Antioksidan Sintetis BHA dengan BHT dalam Menghambat Ketengikan Kelapa Gongseng Giling (U Neulheu) selama Penyimpanan. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*. 6(2): 34–37

- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2012. Guidelines for Standard Method Performance Requirements Appendix F.
- Atsari, N. A., and Lestari, D. 2023. *Effect of Solvent Ratio and Extraction Temperature on the Purity of Vitamin E from Palm Fatty Acid Distillate Extract. Proceedings of the 4th ITB Graduate School Conference* 552–563. Bandung, 06 Juli 2023: IGSC.
- Atun, S. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktural Senyawa Organik Bahan Alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya*. 8(2): 53–61.
- Ayustaningwarno, F. 2012. Proses Pengolahan Dan Aplikasi Minyak Sawit Merah Pada Industri Pangan. *Vitasphere*. II: 1–11.
- Azeman, N. H., Yusof, N. A., and Othman, A. I. 2015. Detection Of Free Fatty Acid In Crude Palm Oil. *Asian Journal of Chemistry*. 27(5): 1569–1573.
- Basiron, Y. 2007. Palm oil production through sustainable plantations. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 109(4): 289–295
- Colombo, M. L. 2010. An Update On Vitamin E, Tocopherol And Tocotrienol-Perspectives. *Molecules*. 15(4): 2103–2113.
- Damayanti, A. and Endah, A.F. 2012. Pemungutan Minyak Atsiri Mawar (Rose Oil) Dengan Metode Maserasi. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*. 1(2): 1–8.
- Day, R. A., and Underwood, R. A. 2002. Analisis kimia kuantitatif. Edisi keenam. In *Analisis Kimia Kuantitatif*.
- De Medina, V. S., Capote, F., and Castro, L. M. D. 2013. *Comparison Of Saponification Methods For Characterization Of The Unsaponifiable Fraction Of Virgin Olive Oil. European Journal of Lipid Science and Technology*. 15(11): 1325–1333.
- Dong, M.W. 2019. HPLC And UHPLC For Practicing Scientists. Hoboken. Hoboken. New Jersey. Wiley.
- Edyson, E., Murgianto, F., Ardiyanto, A., Astuti, E. J., and Ahmad, M. P. 2022. Preprocessing Factors Affected Free Fatty Acid Content in Crude Palm Oil Quality. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 27(2): 177–181.
- Eurachem, G. 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods, A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Laboratory of the Government Chemists. London.
- Estiasih, T., Kgs. Ahmadi., Wenny, B. S., and R. Amilia. 2011. Saponifikasi dan Ekstraksi Satu Tahap untuk Ekstraksi Minyak Tinggi Linoleat dan Linolenat dari Kedelai Varietas Lokal. *Agritech*. 31 (1): 36–45.
- Fauzi, Widyastuti., Satyawibawa and Hartono. 2006. Kelapa Sawit Seri Agribisnis. Penebar Swadaya. Jakarta
- Fajriyati., M and Pabbenteng. 2016. Rasio Bekatul Padi Dengan Pelarut Pada Ekstraksi Minyak Bekatul Padi. *Journal Intek*. 3 (2): 82–86.

- Fajri, N., Cahya, E. P., Riandi, & Sriyati, S. 2024. Validasi Metode Analisis Konsentrasi Larutan Kopi Berdasarkan Spektroskopi Absorpsi Cahaya. *jipfri Jurnal Inovasi Pendidikan Fisika dan Riset Ilmiah*. 8(1): 51–59.
- Furi, M., Dona, R., and Tristan, V. 2022. Penetapan Kadar Vitamin E dalam Ekstrak n-Heksan Buah Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) dan CPO (Crude Palm Oil) dengan Metode KCKT. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 20(1): 49–54.
- Gandjar, I. G., and Rohman, A. 2010. Kimia Farmasi Analisis Edisi IV. Pustaka Belajar. Yogyakarta.
- Hilma, R., Anggita, A. F., and Ikhtiarudin, I. 2018. Ekstraksi Dan Optimasi Vitamin E Dari Fraksi Non Polar Crude Palm Oil (CPO). *Photon: Jurnal Sain dan Kesehatan*. 9(1): 169–176.
- Hamzah, R. N., and Santoso, I. H. 2020. Analisis Pengaruh Produksi, Harga Ekspor Crude Palm Oil, Nilai Tukar IDR/USD Terhadap Volume Ekspor Crude Palm Oil Indonesia 2012-2016. *Ekonomi Jurnal Ilmu Ekonomi*. 1(2): 183.
- Hussen, A. 2022. High-Performance Liquid Chromatography (HPLC): A review. *Annals of Advances in Chemistry*. 6(1): 010–020.
- Harlen, W. C., Muchtadi, T. R., and Palupi, N. S. 2018. Bioavailabilitas α -Tokoferol Minuman Emulsi Minyak Sawit dalam Plasma Darah dan Hati Tikus (*Rattus norvegicus*). *Agritech*. 37(3): 352.
- Hilma, R., Anggita, A. F., and Ikhtiarudin, I. 2018. Ekstraksi Dan Optimasi Vitamin E dari Fraksi Non Polar *Crude Palm Oil* (CPO). *Photon: Jurnal Sain Dan Kesehatan*. 9(1): 169–176.
- Ihsan, F. N., and Fajri, R. 2019. Pengaruh Kadar *Free Fatty Acid* (FFA) dalam Bulk Stronge Tank (BST) Terhadap Kualitas Crude Palm Oil (CPO) Hasil Produksi Pengolahan Kelapa Sawit PMKS PT. Sisirau Aceh Tamiang. *Jurnal Kimia Sains Dan Terapan*. 1(1): 22–24.
- Joung, J. F., Han, M., Jeong, M., and Park, S. 2020. Experimental Database of Optical Properties of Organic Compounds. *Scientific Data*. 7(1): 1–6.
- Karpiuk, I., Karpiuk, I., Wilczura, H., and Myśliński, A. (2018). α -Tocopherol/AOT/Alkane/Water System. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*: 131(3)
- Khairi, W., Gunawan, P. W., Nuraini, H., Safwan, Abdul, R. W., Irmatika, H., and Dzun H. I. 2025. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder pada Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 6 (2): 136–140.
- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M., and Kurniadi, B. 2008. Buku Ajar Fitokimia. Surabaya. UNAIR Press.

- Kuś, S., Marczenko, Z., and Obarski, N. 1996. Derivative UV-VIS Spectrophotometry In Analytical Chemistry. *Chemia Analityczna*. 41(6): 899–929.
- Kurniawati, A. 2016. Validasi Metode Analisis Etil -Metoksisinamat Dalam Plasma Secara *In Vitro* menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). *Skripsi*. Uin Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Kushairi, A., Abdullah, O, M., Nambiappan, B., Hishamuddin, E., Bidin, M. N. I. Z., Ghazali, R., Subramaniam, V., Sundram, S., and Parveez, G. K. A. 2019. *Oil Palm Economic Performance In Malaysia And R&D Progress In 2018. Journal of Oil Palm Research*.31(2): 165–194.
- Lodu, W., and Karwur, F. F. 2017. Pemisahan Dan Identifikasi Isomer Tocotrienols Dari Tocotrienols Rich Fraction (Trf) Segregation And Identification Of Tocotrienol Isomer From Tocotrienol Rich Fraction (Trf). *Proceeding Biology Education Conference*. 14 (1): 532–535.
- Mei, H. N., Yuen, M. C., Ah, N. M., Cheng, H. C., and Hashim, M. A. 2004. *Separation Of Vitamin E (Tocopherol, Tocotrienol, And Tocomonoenol) In Palm Oil. Lipids*. 39(10): 1031–1035.
- Mochida, Y., and Kawamoto, Y. 2023. High Performance Liquid Chromatography. *Drug Delivery System*. 38(4): 329–333.
- Mulidini, M., Nanda, A. Y. D., Hanum, N. K., Nurfadhila, L., and Utami, M. R. 2023. Analisis dan Validasi Obat Metformin Dalam Plasma Manusia Menggunakan Metode HPLC. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*. 6(2): 741–749.
- Nafisa, S., Rohmah, S., Nihan, Y. A., Nurfadhila, L., and Utami, R. 2023. Review: Analysis of Warfarin Drug Compounds in Blood Plasma with HPLC/KCKT Method. *Journal of Pharmaceutical and Science*. 6(2): 479–494.
- Nitty, A. R., and Hafiludin, H. 2025. Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Gracilaria Sp. Hasil Pemisahan Kromatografi Kolom. *Journal of Marine Research*. 14(1): 18–30.
- Nurfiqih, D., Hakim, L., and Muhammad, M. 2021. Pengaruh Suhu, Persentase Air, Dan Lama Penyimpanan Terhadap Persentase Kenaikan Asam Lemak Bebas (Alb) Pada *Crude Palm Oil* (CPO). *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. 10(2): 1.
- Nurulhadi, Z. F., Anita, A., Helsen, H., Ujung, R. M. U., and Abriyani, E. 2024. Analisis Vitamin C Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis (Tinjauan Literatur dan Aplikasi). *Jurnal Kesmas Asclepius*. 6(1): 90–100.
- Piepho, H. P. 2023. An Adjusted Coefficient Of Determination (R²) For Generalized Linear Mixed Models In One Go. *Biometrical Journal*. 65(7): 1–17.

- Putri, L.E. 2017. Penentuan Konsentrasi Senyawa Berwarna KmnO_4 Dengan Metoda Spektroskopi UV Visible. *Natural Science Journal*. 3(1): 391–398.
- Rafi, M., Rudi, H., and Dewi, A.S. 2017. Atlas Kromatografi Lapis Tipis Tumbuhan Obat Indonesia. Bogor. IPB Press.
- Ramdan, S. R. K., and Vivit, F. 2023. Optimasi Fase Gerak Pada Isolasi Dan Identifikasi Antosianin Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas* L). *Pharmacy Genius*. 2 (2): 135–144.
- Riyanto, A., Aulia, M., Asni, N., Putri, S. D. E. P., and Rukmana, M. D. 2024. Eksplorasi Potensi Pigmen dalam Daun Pandan (*Pandanus odoratissimus*) melalui Kromatografi Kolom. *Journal of Polymer Chemical Engineering and Technology*. 2(1): 37–42.
- Rupa, N., F., Sabaniah I., G., and Islamuddin A. 2023. Validasi Metode Dan Penetapan Kadar Kafein Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Mulawarman Pharmaceutical. Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. 109-114. Samarinda, 1–3 Desember 2023. Mulawarman Pharmaceutical Conference.
- Rusdi, H. O., Kusumaningrum, I. K., and Nareswari, T. J. 2024. Separation and Determination of Free Fatty Acids in Corn Oil and Palm Oil by Liquid-Liquid Extraction and Acidi-Alkalimetric Titration. *Walisongo Journal of Chemistry* 7(1): 98–106.
- Rushikesh, B. 2024. A Brief Review on Different Chromatographic Techniques. *Journal of Pharmaceutical Research*. 8 (1).
- Sadek, P. 2002. The HPLC Solvent Guide. Wiley of Interscience. United States Of America
- Safira, Ida, M., and Annissa, L. I. 2019. Perbandingan Metode Analisis Instrumen HPLC dan UHPLC : Article Review. *Farmaka*. 17: 1–15.
- Saragih, I. K., Rachmina, D., and Krisnamurthi, B. 2020. Analisis Status Keberlanjutan Perkebunan Kelapa Sawit Rakyat Provinsi Jambi. *Jurnal Agribisnis Indonesia*. 8(1): 17–32.
- Sen, C. K., Khanna, S., and Roy, S. 2006. Tocotrienols: Vitamin E beyond tocopherols. *Life Sciences*. 78(18): 2088–2098.
- Sipayung, T. Jan Horas V., and Purba. 2015. Ekonomi Agribisnis Minyak Sawit. PASPI. Bogor.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., and Crouch, S.R. 2007. Principles Of Instrument Analysis Sixth Edition. Thomson Corporation. Canada.
- Sudjaji. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Pustaka Belajar. Yogyakarta.
- Taupik, M., Mustapa, A., and Gonibala., S. 2021. Analisis Kadar Rhodamin B Pada Blush-On Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*. 1(2): 119–126.

- Teixeira, C. B., Macedo, G. A., Macedo, J. A., Silva, L. H. M., and Rodrigues, A. M. da C. 2013. Simultaneous Extraction of Oil and Antioxidant Compounds From Oil Palm Fruit (*Elaeis Guineensis*) By An Aqueous Enzymatic Process. *Bioresource Technology*. 129: 575–581.
- Thakur, S., Ratnam, S., and Singh, A. 2024. Introduction to Agribusiness Management. *Agribusiness Management*. 43(1): 1–20.
- Tiwari P., Bimlesh K., Mandeep K., Gurpreet K., and Harleen K. 2011. Phytochemical Screening and Extraction : A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. (1): 98–106.
- Tuhuloula, A., Budiarti, L., and Fitriana, E. N. 2013. Karakterisasi Pektin Dengan Memanfaatkan Limbah Kulit Pisang Menggunakan Metode Ekstraksi. *Konversi*. 2(1): 21.
- Widada, H.. 2013. Analisis Kandungan Vitamin E pada Buah *Borassus flabellifer* Linn. Menggunakan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Analysis of Vitamin E in *Borassus flabellifer* Linn. Using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Artikel Penelitian Mutiara Medika*. 13(3): 143–150.
- Zulkifli, M., and Estiasih, T. 2018. Sabun dari Distilat Asam Lemak Minyak Sawit. *Pangan Dan Agroindustri*. 2(4): 170–177.