

PEMISAHAN DAN PEMURNIAN TOKOTRIENOL DARI *HIGH ACID CRUDE PALM OIL* (HACPO) DENGAN KROMATOGRAFI KOLOM SERTA ANALISIS MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS DAN *HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY* (HPLC)

(Skripsi)

Oleh

**ALYA SALMA
2117011080**



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

ABSTRAK

PEMISAHAN DAN PEMURNIAN TOKOTRIENOL DARI *HIGH ACID CRUDE PALM OIL* (HACPO) DENGAN KROMATOGRAFI KOLOM SERTA ANALISIS MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS DAN *HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY* (HPLC)

Oleh

Alya Salma

High Acid Crude Palm Oil (HACPO) mengandung vitamin E (tokoferol dan tokotrienol). Tokotrienol memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dan bermanfaat untuk kesehatan. Tokotrienol dalam HACPO masih bercampur dengan senyawa lain. Penelitian ini bertujuan untuk memisahkan dan memurnikan senyawa tokotrienol dari HACPO dengan kromatografi kolom, serta melakukan analisis kualitatif dan kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan HPLC.

Pemisahan tokotrienol dari HACPO menggunakan kromatografi kolom dengan fase diam: silika gel, dan fase gerak: n-heksan:etil asetat, dengan 5 perbandingan komposisi (10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4). Fraksi yang dihasilkan diidentifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan visualisasi reagen *Lieberman Buchard*, 4-Anisaldehyd, dan Serium sulfat. Fraksi yang menunjukkan positif terpenoid dan mempunyai nilai RF mirip dengan standar tokotrienol diukur $\lambda_{\max}$ menggunakan spektrofotometer UV-Vis, kemudian dianalisis menggunakan HPLC dengan fase gerak (85% metanol, 7,5% etanol dan 7,5% asetonitril), fasa diam Kinetex™ C18 (5 μm , 150 $\times$ 4,6 mm), suhu kolom 40°C laju alir 1 mL/menit, detektor PDA λ 262 nm.

Dari hasil spektrofotometer UV-Vis, $\lambda_{\max}$ tokotrienol pada sampel 290 nm, dan $\lambda_{\max}$ tokotrienol pada standar 293 nm. Analisis HPLC menunjukkan munculnya satu puncak yang nilai waktu retensi sama dengan standar tokotrienol yaitu 3,7 menit, serupa dengan waktu retensi δ -tokotrienol referensi. Hasil ini menunjukkan adanya isomer δ -tokotrienol dalam sampel, dengan konsentrasi 222,7 ppm. Rendemen hasil yang diperoleh dari metode ini adalah 0,1%.

Kata kunci: HACPO, tokotrienol, kromatografi kolom, spektrofotometri UV-Vis, HPLC

ABSTRACT

SEPARATION AND PURIFICATION OF TOCOTRIENOL FROM HIGH ACID CRUDE PALM OIL (HACPO) USING COLUMN CHROMATOGRAPHY AND ANALYSIS BY UV-VIS SPECTROPHOTOMETRY AND HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)

By

Alya Salma

High Acid Crude Palm Oil (HACPO) contains vitamin E (tocopherols and tocotrienols). Tocotrienols has high antioxidant activity and significant health benefits. Tocotrienols in HACPO are still mixed with other compounds. This study aims to separate and purify tocotrienol compounds from HACPO using column chromatography, and conduct qualitative and quantitative analysis using UV-Vis spectrophotometer and HPLC. Tocotrienols separation using column chromatography with silica gel stationary phase, and n-hexane:ethyl acetate mobile phase (10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4). Column fraction identification by Thin Layer Chromatography (TLC) using Lieberman Buchard reagent, 4-anisaldehyde, and cerium sulfate. Fraction that shows positive terpenoid measured for $\lambda_{\max}$ using a UV-Vis spectrophotometer, and then analyzed by HPLC with mobile phase (85% methanol, 7.5% ethanol, and 7.5% acetonitrile), Kinetex™ C18 stationary phase (5 μm , 150 $\times$ 4.6 mm), 40°C column temperature, flow rate of 1 mL/min, and PDA detector at λ 262 nm. UV-Vis spectrophotometer results, the $\lambda_{\max}$ of tocotrienol in the sample was 290 nm, while the $\lambda_{\max}$ of tocotrienol in the standard was 293 nm. HPLC analysis showed that there was one peak which had similar retention time with tocotrienols standard 3.7 minutes, similar with Rt δ -tokotrienol reference. These results indicate the presence of δ -tocotrienol isomers in sample, its concentration was 222.7 ppm. The yield obtained was 0,1%.

Keywords: HACPO, Tocotrienols, column chromatography, UV-Vis Spectrophotometry, HPLC

PEMISAHAN DAN PEMURNIAN TOKOTRIENOL DARI *HIGH ACID CRUDE PALM OIL* (HACPO) DENGAN KROMATOGRAFI KOLOM SERTA ANALISIS MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS DAN *HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY* (HPLC)

Oleh

Alya Salma

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 Skripsi : **PEMISAHAN DAN PEMURNIAN TOKOTRIENOL
DARI *HIGH ACID CRUDE PALM OIL* (HACPO)
DENGAN KROMATOGRAFI KOLOM SERTA
ANALISIS MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER
UV-VIS DAN *HIGH PERFORMANCE LIQUID
CHROMATOGRAPHY* (HPLC)**

Nama Mahasiswa : **Alya Salma**

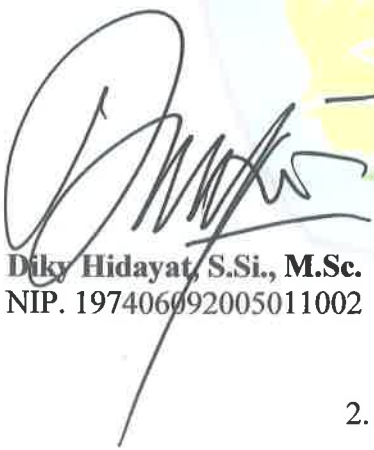
Nomor Pokok Mahasiswa : **2117011080**

Jurusan : **Kimia**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing



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



Dian Septiani Pratama, S.Si., M.Si.
NIP. 198009082009122003

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA



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

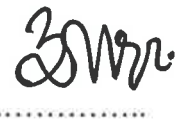
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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



Sekretaris : Dian Septiani Pratama, S.Si., M.Si.



Anggota : Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

Tanggal lulus ujian skripsi : 18 September 2025

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Alya Salma
NPM : 2017011080
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan
Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya, bahwa skripsi saya berjudul **“Pemisahan dan Pemurnian TOKOTRIENOL DARI *HIGH ACID CRUDE PALM OIL* (HACPO) DENGAN KROMATOGRAFI KOLOM SERTA ANALISIS MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS DAN *HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY*”** adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, hasil dan analisisnya. Selanjutnya saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

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

Bandar Lampung, 13 Oktober
2025 Yang Menyatakan,



10000
TBL
20
METERAI
TEMPEL
7BANX052792641

Alya Salma
NPM. 2117011080

RIWAYAT HIDUP



Penulis Bernama lengkap Alya Salma, lahir di Metro pada tanggal 11 April 2003. Penulis merupakan putri pertama dari pasangan Bapak Ikhwaniul Hakim dan Ibu Siti Rahma. Saat ini penulis bertempat tinggal di Metro Timur. Penulis menyelesaikan pendidikan dasar di SD Negeri 1 Metro Pusat pada tahun 2015. Kemudian, melanjutkan Pendidikan ke SMP Negeri 2 Metro Timur hingga tahun 2018. Penulis menamatkan Pendidikan menengah atasnya di MAN 1 Lampung Timur pada tahun 2021. Selanjutnya, penulis diterima di jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Lampung jalur SBMPTN pada tahun 2021.

Selama masa kuliah, penulis aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Kimia, khususnya pada bidang kesekretariatan pada tahun 2022-2023. Pada tahun 2024 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Rejomulyo, Kecamatan Jati Agung Kabupaten Lampung Selatan sebagai bentuk pengabdian kepada masyarakat dan penulis juga menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Dinas Lingkungan Hidup (DLH) Kota Metro dengan judul “Analisis Kualitas Air Sungai Way Raman Kota Metro Dengan Parameter *Dissolved Oxygen* (DO) sesuai SNI dan *Biochemical Oxygen Demand* (BOD) sesuai SNI.” Penulis menyelesaikan penelitian yang dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik dan Instrumentasi Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Lampung dengan judul “Pemisahan dan Pemurnian tokotrienol pada *High Acid Crude Palm Oil* (HACPO) Dengan Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)”.

MOTTO

“Sesungguhnya Bersama Kesulitan Ada Kemudahan.”

(QS. Al Insyirah: 6)

“Bersabarlah Kamu, Sesungguhnya Janji Allah Adalah benar.”

(Ar-Rum: 60)

“Selalu Ada Harga Dalam Proses. Nikmati Saja Lelah-Lelah itu.
Lebarkan Lagi Rasa Sabar Itu. Semua yang Kau Investasikan Untuk
Menjadikan Dirimu Serupa yang Kau Impikan Mungkin Tidak Akan
Selalu Berjalan Lancar. Tapi Gelombang-gelombang
itu yang Nanti Bisa Kau Ceritakan.”

(Boy Chandra)

“Terlambat bukan berarti gagal, cepat bukan berarti hebat.
Terlambat bukan menjadi alasan untuk menyerah, setiap orang
memiliki proses yang berbeda. Percaya proses itu yang paling
penting karna

Allah telah mempersiapkan hal baik dibalik
kata proses yang kamu anggap rumit.”

(Anonim)

PERSEMBAHAN

Dengan mengucapkan *alhamdulillahirobbil'alamin* puji syukur kepada Allah *subhanahu wa ta'ala* atas limpahan rahmat dan karunia-Nya yang selalu menyertai setiap langkahku, sehingga terciptalah sebuah karya yang ku persembahkan sebagai wujud bakti dan tanggung jawabku kepada:

Bapak Ikhwanul Hakim dan Ibu Siti Rahma yang telah mengandung, melahirkan, membesarkan, mendidik, memberikan cinta dan kasih sayang, mendoakan, menyemangati, serta senantiasa mendukung dan menemani setiap langkahku. Semoga Allah SWT hadiahkan *Jannah-Nya* untukmu,
Aamiin yaa Robbal'alamin.

Adik Raisya Anjani yang telah mendukung dan mendoakan dalam segala hal. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan keberkahan, keberhasilan, dan kebahagiaan kepada keluarga ini.

Pembimbing penelitianku, Bapak Diky Hidayat, S.Si., M.Si. dan Ibu Dian Septiani Pratama, S.Si., M.Si. dan Penguji penelitianku Ibu Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si. terima kasih atas bimbingan, nasihat, dan ilmu yang telah diberikan selama ini.

Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung atas dedikasi, ilmu, dan bimbingan yang tak ternilai harganya.

Keluarga besar dan sahabat-sahabatku yang memberikan dukungan moral dan spiritual. Terima kasih atas segala doa dan motivasinya.

Serta,

Almamaterku tercinta, Universitas Lampung

SANWACANA

Alhamdulillah segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, karunia, serta keberkahan kepada hamba-Nya. Sholawat beriring salam selalu tercurahkan kepada nabi Muhammad SAW yang senantiasa diharapkan syafaatnya hingga hari akhir kelak, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pemisahan dan pemurnian Tokotrienol pada *High Acid Crude Palm Oil* (HACPO) dengan Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)”. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan, kritik, saran, dan doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini teriring do’a yang tulus, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Tuhan Yang Maha Esa, Allah SWT, atas nikmat dan karunia yang telah diberikan sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
2. Kedua orang tua penulis, Ayah dan Ibu yang sangat berjasa karena selalu mendukung, mendo'akan, memotivasi, menjadi tempat berkeluh kesah, dan selalu berusaha memberikan yang terbaik kepada penulis. Ucapan terima kasih tidak akan cukup mewakili rasa syukur penulis karena terlahir dan tumbuh sebagai putri yang selalu dididik untuk menjadi lebih baik setiap waktunya. Semoga Allah SWT selalu memberikan perlindungan, kesehatan, rezeki, kebahagiaan dunia akhirat, dan umur yang panjang sehingga dapat selalu Bersama.
3. Adik penulis yang selalu menghibur dan menjadi penyemangat selama ini. Semoga selalu dilancarkan dan dimudahkan segala keinginannya dan sukses dunia dan akhirat.

4. Bapak Diky Hidayat, S.Si., M.Sc. selaku dosen pembimbing Utama terima kasih telah membimbing, membantu, memotivasi dan meluangkan waktu dan pikirannya serta memberikan segala kebaikannya hingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini. Semoga Allah SWT selalu memberikan perlindungan dan keberkahan atas semua kebaikan yang telah Bapak berikan.
5. Ibu Dian Septiani Pratama, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Kedua terima kasih atas segala kebaikan, ilmu, bimbingan, motivasi, kritik dan saran kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik. Semoga Allah SWT selalu memberikan perlindungan dan keberkahan atas semua kebaikan yang telah Ibu berikan.
6. Ibu Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Sc. selaku Dosen Pembahas terima kasih atas kritik, saran, ilmu yang telah diberikan. Terima kasih atas segala kesediaannya untuk memberikan yang terbaik untuk penulis, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Semoga Allah SWT selalu memberikan keberkahan atas semua kebaikan yang telah Ibu berikan.
7. Bapak Prof. Dr. Drs. Hardoko Insan Qudus, S.U. selaku pembimbing akademik yang telah membimbing, mengarahkan, serta memberikan kesempatan untuk berdiskusi terkait perkuliahan dan kemajuan belajar.
8. Ibu Prof Mita Rilyanti, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah membantu dalam segala hal terkait administrasi dan menyetujui laporan skripsi ini.
9. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah membimbing dan memberikan banyak ilmu, pengalaman yang sangat berharga dan bermanfaat, serta motivasi kepada penulis selama menjadi mahasiswi jurusan kimia.
10. Ibu Dr. Dian Herasari, M.Si. selaku Sekretaris Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
11. Bapak/Ibu Dosen dan Kepala Laboratorium Jurusan Kimia atas bantuan dan ilmu yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Jurusan Kimia Universitas Lampung.

12. Sahabat-sahabatku, Agis, Dina dan Pretty atas segala bantuan, dukungan, dan waktu yang telah kita habiskan selama ini. Terima kasih sudah menemani hingga saat ini. Semoga pertemanan ini akan terus terjalin hingga nanti dan semoga kalian selalu diberikan kelancaran dan kesuksesan kedepannya.
13. Rekan seperjuangan seperbimbingan Raditya Adam Narendra yang telah banyak membantu, memberikan dukungan, dan bekerja sama sehingga penelitian dan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Semoga dilancarkan untuk setiap urusan dan sukses selalu.
14. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu per-satu yang telah memberikan dukungan, doa, nasihat, dan bimbingan dalam penulisan ini.
15. Alya Salma, diriku sendiri. apresiasi sebesar-besarnya karena telah bertanggung jawab menyelesaikan apa yang telah dimulai. Terima kasih karena telah berusaha keras dan tidak menyerah, serta menikmati setiap proses yang bisa dibilang tidak mudah. Ini merupakan pencapaian yang patut dibanggakan untuk diri sendiri dan awal dari kehidupan yang sesungguhnya.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan dan kesalahan dalam penyusunan skripsi ini. Namun, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat untuk perkembangan ilmu pengetahuan di masa depan.

Bandar Lampung,
Yang Menyatakan,

Alya Salma
NPM. 2117017080

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Manfaat Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Minyak Kepala Sawit	5
2.1.1. Klasifikasi Kelapa Sawit.....	6
2.1.2. Pengolahan Minyak Kelapa Sawit.....	7
2.2. <i>High Acid Crude Palm Oil</i> (HACPO)	8
2.3. Vitamin E	8
2.4. Senyawa Tokotrienol	9
2.5. Pemisahan dan Pemurnian.....	10
2.5.1. Kromatografi Kolom	11
2.5.2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	12
2.5.3. Spektrofotometri UV-Vis	13
2.5.4. <i>High Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC).....	14
2.5.4.1. Jenis-Jenis High Performance Liquid Chromatography (HPLC)...	16
III. METODE PENELITIAN	19
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	19
3.2. Alat dan Bahan.....	19

3.2.1. Alat.....	19
3.2.2. Bahan	19
3.3. Prosedur Penelitian	20
3.3.1. Pemisahan Menggunakan Kromatografi Kolom	20
3.3.2. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	21
3.3.3. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Dengan Spektrofotometer UV-Vis	21
3.3.4. Analisis High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	21
3.3.5. Diagram Alir	22
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1. Kromatografi Kolom	23
4.2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	24
4.3. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	27
4.4. Analisis HPLC	28
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	30
5.1. Kesimpulan.....	30
5.2. Saran	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN.....	36

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Variasi Konsentrasi Pelarut Gradien	19
2. Nilai RF Isomer Vitamin E pada KLT.	27
3. Nilai Parameter Kuantitatif	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar

Halaman

1. Minyak Kelapa Sawit	5
2. Klasifikasi Kelapa Sawit	7
3. Struktur Tokotrienol	10
4. Skema Ekstraksi	12
5. Hasil Analisis HPLC	16
6. HPLC Normal Phase.....	17
7. HPLC Reverse Phase.....	17
8. Skema Pemisahan Tokotrienol.....	20
9. Diagram Alir.....	22
10. Pemisahan Kromatografi Kolom.....	23
11. Hasil KLT 254 nm dan 366 nm.....	25
12. Visualisasi Dengan Reagen Lieberman Buchard.....	26
13. Visualisasi Dengan Reagen 4-Anisaldehyd.....	26
14. Visualisasi Dengan Reagen Serium Sulfat.....	27
15. Panjang Gelombang Maksimum.....	28
16. Kromatogram HPLC.....	30

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Minyak kelapa sawit berasal dari buah kelapa sawit (*Elaeis guineensis*). Kelapa sawit merupakan komoditas penting di pasar lokal, regional, dan global yang banyak dibudidayakan di negara-negara seperti Indonesia dan Malaysia (Amalia dkk., 2019). Minyak kelapa sawit memiliki berbagai aplikasi dalam industri makanan, kosmetik, medis, dan energi. Pemanfaatan minyak kelapa sawit dalam formulasi kosmetik dan produk farmasi, karena kandungan vitamin E dan antioksidan yang berkontribusi pada manfaat kesehatan kulit. Minyak ini juga semakin populer dalam produksi biodiesel sebagai alternatif energi terbarukan (Yusoff *and* Choo, 2019).

Minyak kelapa sawit kaya akan asam palmitat dan oleat (Lamaisri *et al.*, 2015) serta kaya akan *fitonutrien* seperti karoten, vitamin E, dan fenol (Mancini *et al.*, 2015). Vitamin E merupakan salah satu jenis *fitosterol* yang ditemukan dalam minyak kelapa sawit, terutama dari *High Acid Crude palm oil* (HACPO). Vitamin E pada HACPO jumlahnya berkisar antara 600-1.000 ppm dan didominasi oleh tokotrienol (Maarasyid *et al.*, 2014). Vitamin E terdiri atas kelompok molekul yang memiliki struktur yang mirip satu sama lain yaitu tokoferol dan tokotrienol. Tokoferol dan tokotrienol disebut juga sebagai *tokokromanol* (Fritsche *et al.*, 2017). Tokotrienol adalah komponen vitamin E alami selain tokoferol dengan sifat utama antioksidan larut lemak yang melindungi membran sel dari kerusakan oksidatif akibat radikal bebas (Lodu dan Karwur, 2017). Tokotrienol dan tokoferol menjadi bahan kombinasi dalam beberapa penelitian yang bertujuan untuk melihat potensi isomer dalam memerangi radikal bebas, menghambat kanker, *kardioprotektif*, dan penuaan dini. δ -tokotrienol (δ -T3) memiliki potensi sebagai anti kanker

terhadap sel kanker payudara, yang diikuti oleh γ -tokotrienol (γ -T3) dan α -tokotrienol (α -T3) (Fayyad *and* Nazzal, 2017). Karakteristik ini menjadikan tokotrienol banyak diteliti untuk menggali lebih dalam potensi dan manfaat yang dimilikinya.

Penelitian terkait potensi tokotrienol terus berkembang, mendorong penelitian lain menggali seputar tokotrienol pada kelapa sawit, selain pemanfaatan tokotrienol, hal lain yang turut menjadi perhatian peneliti adalah metode untuk mengekstrak vitamin E pada minyak kelapa sawit (Setiowati dkk., 2021), salah satunya penggunaan metode saponifikasi yang dilakukan pada tokotrienol kaya fraksi (TRF) dengan tujuan untuk memisahkan asam lemak bebas dengan fraksi yang tidak tersabunkan secara efektif. Saponifikasi menggunakan asam askorbat untuk mencegah oksidasi selama proses, sehingga kualitas tokotrienol yang dihasilkan dapat tetap terjaga, akan tetapi karena paparan suhu yang tinggi selama saponifikasi dapat berpotensi kehilangan sebagian tokotrienol yang dapat mengurangi hasil akhir. Proses ini juga memerlukan penggunaan bahan kimia tertentu, seperti asam askorbat dan alkali, yang dapat meningkatkan biaya produksi (Lodu dan Karwur, 2017).

Metode alternatif lainnya perlu dikembangkan, salah satunya adalah metode kromatografi kolom, teknik ini bekerja berdasarkan perbedaan polaritas komponen dalam campuran, yang memungkinkan pemisahan bertahap saat campuran melewati fase stasioner dalam kolom. Kromatografi kolom memiliki fleksibilitas dalam memilih pelarut dan fase stasioner, meskipun membutuhkan waktu lebih lama dibandingkan teknik pemisahan lainnya (Fayyad *and* Nazzal, 2017). Penelitian tersebut mengembangkan metode kromatografi kolom dengan menggunakan silika gel sebagai fase stasioner dan sistem pelarut gradien berbasis heksana dan etil asetat. Metode ini memungkinkan pemisahan isomer tokotrienol secara efisien dari fraksi kaya vitamin E minyak kelapa sawit, menghasilkan kemurnian isomer lebih dari 96%. Metode ini memanfaatkan sifat fisik dan kimia dari tokotrienol untuk meminimalkan degradasi senyawa aktif tanpa memerlukan langkah

saponifikasi. Pemisahan tokotrienol langsung dari minyak kelapa sawit mentah berkadar asam lemak tinggi *High-Acid Crude Palm Oil* (HACPO) dengan metode kromatografi kolom cukup efektif dan efisien jika dibandingkan dengan saponifikasi. Proses ini lebih sederhana dan efisien karena mengolah langsung minyak mentah dengan kualitas lebih rendah menjadi bahan bernilai tinggi, sekaligus mengurangi limbah yang dihasilkan. Untuk memastikan identifikasi isomer tokotrienol, dapat menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). HPLC mampu memisahkan isomer-isomer tokotrienol dan tokoferol dengan tingkat selektivitas yang tinggi, sehingga memungkinkan analisis kuantitatif yang akurat dengan waktu yang relatif singkat. Optimasi kondisi ekstraksi sangat penting untuk meningkatkan efisiensi pemisahan. Kontrol variabel seperti suhu inkubasi, waktu inkubasi, dan rasio pelarut-fraksi juga dapat memengaruhi hasil ekstraksi. Suhu inkubasi yang optimum adalah sekitar 40°C agar tidak terjadi degradasi isomer tokotrienol (Fayyad *and* Nazzal, 2017). Dilakukan penelitian ini untuk mendapatkan informasi mengenai metode ekstraksi tokotrienol pada HACPO dengan menggunakan kromatografi kolom, spektrofotometri UV-Vis dan HPLC. Melalui optimasi kondisi ekstraksi yang tepat, diharapkan industri farmasi dan kosmetik dapat memaksimalkan manfaat dari tokotrienol, sehingga memberikan kontribusi nyata dalam pengembangan produk yang lebih efisien dan berkelanjutan.

1.2. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memisahkan dan memurnikan senyawa tokotrienol pada *High Acid Crude Palm Oil* (HACPO).
2. Mendapatkan kadar tokotrienol pada HACPO.

1.3. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi metode yang dapat digunakan untuk mengetahui kandungan secara kuantitatif dan kualitatif menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dan *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC).
2. Memberikan solusi inovatif dalam pemanfaatan minyak sawit berasam tinggi (HACPO), yang sering dianggap kurang bernilai menjadi produk yang lebih bernilai tinggi melalui pemisahan yang efektif.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Minyak Kepala Sawit

Minyak kelapa sawit diperoleh dari buah kelapa sawit (*Elaeis guineensis*) merupakan salah satu minyak nabati yang paling banyak diproduksi dan dikonsumsi di dunia. Pada abad ke-19, minyak kelapa sawit telah berkembang menjadi salah satu komoditas ekspor utama, dengan Indonesia dan Malaysia sebagai produsen terbesar (Ewaldo, 2015). Minyak sawit memiliki banyak keunggulan jika dilihat dari mutu gizinya. Selain mengandung asam lemak tak jenuh seperti asam oleat (39,2%), asam linoleat (10,1%), dan asam α -linolenat (0,4%), minyak sawit juga mengandung komponen bioaktif seperti β -karoten, tokotrienol, dan tokoferol (Mancini *et al.*, 2015). Minyak kelapa sawit disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Minyak Kelapa Sawit

Pertumbuhan pesat industri minyak kelapa sawit tidak terlepas dari tantangan lingkungan yang serius, termasuk deforestasi, kehilangan biodiversitas, dan peningkatan emisi gas rumah kaca. Ekspansi perkebunan kelapa sawit sering kali dilakukan dengan mengorbankan hutan hujan tropis, yang berdampak

negatif pada ekosistem dan masyarakat lokal. Upaya untuk meningkatkan keberlanjutan dalam industri ini, seperti sertifikasi *Roundtable on Sustainable Palm Oil* (RSPO), bertujuan untuk mendorong praktik pertanian yang lebih baik dan bertanggung jawab dengan meningkatkan transparansi dalam rantai pasokan minyak sawit (Mason *et al.*, 2022). Jenis-jenis kelapa sawit harus diklasifikasikan untuk memahami potensi produksi dan kualitas minyak yang dihasilkan, misalnya varietas 'tenera' yang umum digunakan di Asia Tenggara dan 'pisifera' yang memiliki kandungan minyak yang lebih rendah (Zulkarnain *et al.*, 2018).

2.1.1. Klasifikasi Kelapa Sawit

Klasifikasi kelapa sawit merupakan topik yang penting dalam industri minyak sawit. Tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) dapat diklasifikasikan berdasarkan ketebalan tempurung dan warna buah. Berdasarkan ketebalan cangkang, tanaman kelapa sawit dibagi menjadi tiga varietas: Varietas Dura, Varietas Pisifera, dan Varietas Tenera. Varietas Dura memiliki ciri-ciri ketebalan cangkang 2-8 mm, tidak memiliki lingkaran serabut di luar cangkang, daging buah relatif tipis, dan daging biji besar dengan kandungan minyak yang rendah (Pahan, 2012). Varietas Pisifera memiliki ciri-ciri ketebalan cangkang sangat tipis, daging buah tebal, dan daging biji sangat tipis. Varietas Pisifera tidak dapat digunakan sebagai bahan baku untuk tanaman komersial tetapi digunakan sebagai induk jantan oleh para pemulia tanaman untuk menyerbuki bunga betina (Pahan, 2012). Klasifikasi kelapa sawit disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Klasifikasi Kelapa Sawit

Menurut Pahan (2012). Tanaman kelapa sawit terbagi menjadi tiga jenis berdasarkan warna buah: *Nigescens*, *Virescens*, dan *Albescens*. Varietas

Nigescens memiliki ciri-ciri buah mudanya berwarna ungu kehitam-hitaman, sedangkan buah yang telah masak berwarna jingga kehitam-hitaman. Varietas *Virescens* memiliki ciri-ciri buah mudanya berwarna hijau, sedangkan buah yang telah masak berwarna jingga kemerah-merahan dengan ujung buah tetap berwarna hijau. Varietas *Albescens* memiliki ciri-ciri buah mudanya berwarna keputihputihan, sedangkan buah yang telah masak berwarna kekuning-kuningan dengan ujung buah berwarna ungu kehitaman (Pahan, 2012). Karakteristik ini sangat penting untuk dipahami karena mempengaruhi proses pengolahan minyak kelapa sawit, yang dimulai dari pemanenan hingga ekstraksi dan pemurnian untuk menghasilkan minyak berkualitas tinggi.

2.1.2. Pengolahan Minyak Kelapa Sawit

Pengolahan minyak kelapa sawit menjadi *High Acid Crude Palm Oil* (HACPO) melibatkan beberapa tahapan yang penting untuk memahami proses ini secara mendalam. Menurut Pahan (2012), pengolahan minyak kelapa sawit dimulai dengan panen Tandan Buah Segar (TBS), yang kemudian disterilisasi untuk memudahkan pemisahan buah dari tandannya. Daging buah ditekan menggunakan alat khusus seperti mesin pemeras untuk mengeluarkan minyak mentah yang dikenal sebagai *Crude Palm Oil* (CPO). CPO yang dihasilkan kemudian diproses lebih lanjut untuk meningkatkan kadar asam lemak bebasnya, sehingga menghasilkan HACPO. Proses ini melibatkan beberapa tahapan seperti *degumming*, netralisasi, pemucatan, dan *deodorisasi*. Modifikasi pada tahapan pemucatan dapat meningkatkan kadar asam lemak bebas dalam minyak sawit, sehingga menghasilkan HACPO (Pahan, 2012).

Pengolahan minyak kelapa sawit menjadi *High Acid Crude Palm Oil* (HACPO) terjadi ketika proses ekstraksi tidak optimal, yang mengakibatkan peningkatan kadar asam lemak bebas. HACPO sering kali dihasilkan dari buah kelapa sawit yang tidak segar atau tidak diproses dengan baik. Kadar asam lemak bebas dalam HACPO dapat mencapai lebih dari 5%, yang menjadikannya tidak cocok untuk konsumsi langsung tetapi dapat digunakan

dalam aplikasi industri, seperti produksi biodiesel dan bahan baku untuk pemurnian lebih lanjut (Suhail dan Sari, 2021).

2.2. *High Acid Crude Palm Oil* (HACPO)

High Acid Crude Palm Oil (HACPO) adalah jenis minyak sawit yang memiliki kadar asam lemak bebas (FFA) yang tinggi, di atas 5%. Tingginya kadar asam lemak bebas dalam HACPO terutama disebabkan oleh proses pemanenan atau pengolahan buah sawit yang terlambat, sehingga terjadi peningkatan aktivitas enzim lipase yang menghidrolisis trigliserida menjadi FFA (Hasibuan, 2016). HACPO sering kali dianggap sebagai produk dengan kualitas lebih rendah, sehingga lebih banyak digunakan dalam produk olahan non-pangan seperti biodiesel (Rifin, 2017). Dalam industri oleokimia, HACPO juga masih memiliki nilai ekonomi karena kandungan minyaknya tetap dapat dimurnikan dan dimanfaatkan (Hasibuan, 2016). HACPO memiliki komposisi asam lemak yang berbeda dengan CPO. CPO memiliki komposisi asam lemak seimbang, dengan 50% asam lemak jenuh dan 50% asam lemak tidak jenuh. Sementara itu, HACPO memiliki komposisi asam lemak yang lebih tinggi, dengan sekitar 80% asam lemak jenuh dan 20% asam lemak tidak jenuh (Suryani dkk., 2022). Potensi HACPO dalam industri biodiesel semakin menarik perhatian, terutama di pasarpasar yang mendorong penggunaan energi terbarukan (Hasibuan dan Siahaan, 2013). Pengelolaan HACPO dengan teknologi modern juga dapat membantu mengurangi kerugian finansial dari hasil panen yang tertunda (Makky dan Soni, 2014).

2.3. Vitamin E

Vitamin E dalam HACPO (*High Acid Crude Palm Oil*) merupakan salah satu bentuk vitamin yang sangat penting karena kandungan antioksidannya yang kuat. Fraksi kaya vitamin E dalam HACPO terdiri dari 70% tokotrienol dan 30% tokoferol, yang membuatnya sangat baik sebagai sumber vitamin E alami. Distilat asam lemak minyak sawit (DALMS), hasil sampingan pemurnian minyak sawit, merupakan sumber vitamin E yang sangat baik

karena kandungan tokotrienol dan tokoferolnya yang tinggi (Nugroho dkk., 2022).

HACPO memiliki kandungan vitamin E yang signifikan, dengan α -tokotrienol mencapai 17,57%, δ -tokotrienol 29,06%, dan γ -tokotrienol 19,89%.

Kandungan ini membuat HACPO sangat potensial sebagai sumber vitamin E untuk berbagai aplikasi kesehatan. Proses kristalisasi pelarut suhu dapat digunakan untuk memperoleh fraksi kaya vitamin E dari DALMS, dengan faktor-faktor yang diujikan seperti nisbah fraksi tidak tersabunkan pelarut, suhu kristalisasi, dan waktu kristalisasi (Nugroho dkk., 2022). Keberlanjutan industri minyak sawit, pada pemanfaatan vitamin E dari HACPO dapat membantu mengurangi limbah dan meningkatkan efisiensi produksi.

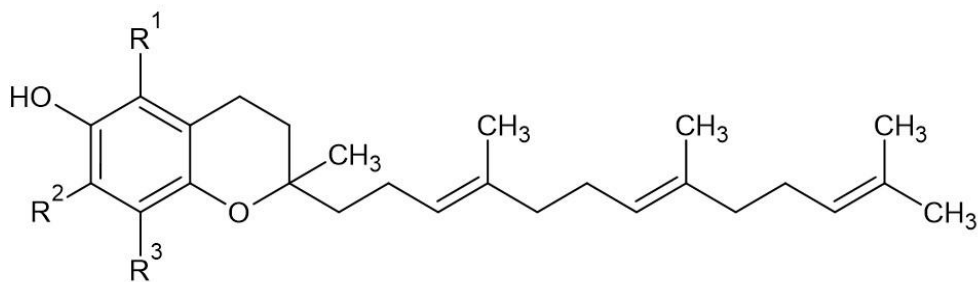
Penelitian lebih lanjut mengenai metode ekstraksi dan pemurnian vitamin E dari HACPO diperlukan untuk memaksimalkan potensi senyawa ini dalam aplikasi *farmaseutikal* dan *nutraceutical* (Kresnawaty dkk., 2012).

2.4. Senyawa Tokotrienol

Tokotrienol adalah komponen vitamin E alami selain tokoferol dengan sifat utama antioksidan larut lemak yang melindungi membran sel dari kerusakan oksidatif.

Tokotrienol memiliki 4 isomer yang berbeda yaitu α -, β -, γ - dan δ - tokotrienol yang memiliki rantai samping poliprenil dengan 3 ikatan tak jenuh pada posisi 3' 7' 11' yang tersambung dengan karbon nomor 2 dari pusat kiral. Rantai samping ini memberikan sifat non-polar pada keseluruhan molekul, dan dalam konteks sel memfasilitasi akses lapisan berlemak pada membran sel (Das *et al.*, 2008).

Tokotrienol dan tokoferol menjadi bahan kombinasi dalam beberapa penelitian yang bertujuan untuk melihat potensi isomer dalam memerangi radikal bebas, menghambat kanker, kardioprotektif, dan penuaan dini. Salah satu campuran tokoferol dan tokotrienol terkandung dalam Tokotrienol rich fraction terdiri dari 70% tokotrienol dan 20-30% α -Tokoferol (Sundram, 2003). Struktur tokotrienol disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Tokotrienol

High Acid Crude Palm Oil (HACPO) pada tokotrienol memiliki potensi besar sebagai senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan nilai tambah produk minyak sawit (Suhail dan Sari, 2021). HACPO, yang dihasilkan dari pengolahan CPO dengan kadar asam lemak bebas tinggi, menjadi sumber utama untuk mendapatkan tokotrienol. Tokotrienol dalam HACPO memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibanding tokoferol, menjadikannya sangat dilirik sebagai salah satu fitofarmaka untuk berbagai keperluan kesehatan dan perawatan. Sebaran tokotrienol sangat terbatas dan tidak ditemukan dalam jumlah yang signifikan pada banyak tanaman. Kelapa sawit merupakan sumber minyak nabati dengan kandungan tokotrienol terbesar, membuatnya sangat penting dalam industri minyak sawit kadar tokotrienol dalam HACPO dapat mencapai 66,52% (Mansor *et al.*, 2019).

2.5. Pemisahan dan Pemurnian

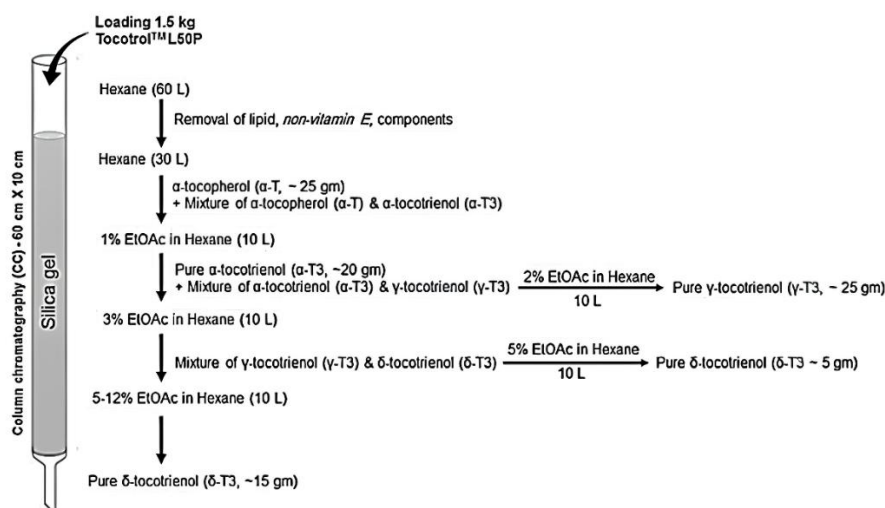
Pemisahan vitamin E untuk mendapatkan tokotrienol sebagai antioksidan dapat dilakukan melalui beberapa metode, umumnya menggunakan teknik saponifikasi dan kromatografi kolom. Kromatografi kolom berbasis silika gel 60 memiliki efisiensi pemisahan yang sangat baik. Proses ini melibatkan pemilihan fase diam dan fase gerak yang tepat seperti heksana, dietil eter, dan pelarut organik lain untuk mendapatkan fraksi tokotrienol murni. Kolom silika gel memungkinkan resolusi pemisahan yang tinggi dengan tingkat kemurnian tokotrienol mencapai 94,6% (Ramdiah, 2011).

Pemurnian dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) telah menjadi metode yang efektif, HPLC digunakan untuk memisahkan isomer tertentu

dan memisahkan vitamin larut lemak dengan tokokromanol bebas maupun teresterifikasi. HPLC memiliki sensitifitas, selektifitas, dan spesifitas tinggi jika dibandingkan UV. HPLC FLD dapat mengidentifikasi konsentrasi komponen vitamin E secara individual dari CPO, PPC, dan *unsaponifiables* of PPC (Ramdiah, 2011).

2.5.1. Kromatografi Kolom

Pada dasarnya kromatografi kolom adalah pemisahan komponen-komponen dalam sampel dengan cara mengalirkan sampel melalui sebuah kolom yang berisi fase diam, biasanya silika gel. Proses pemisahan terjadi berdasarkan prinsip adsorpsi, yaitu kompetisi antara zat terlarut (sampel) dan fase gerak dengan permukaan fase diam, di mana kekuatan adsorpsi dipengaruhi oleh sifat gugus fungsional dan tingkat kepolaran senyawa (Wati, 2014). Penelitian ini menggunakan metode yang telah dikembangkan oleh (Fayyad *and* Nazzal, 2017) di mana teknik pemisahan dengan kromatografi kolom diterapkan untuk memperoleh isomer-isomer dengan kemurnian tinggi. Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom untuk memisahkan isomer α -Tokoferol, α -Tokotrienol, γ -Tokotrienol dan δ -Tokotrienol, sementara isomer β -Tokotrienol tidak dapat dipisahkan karena kesamaan strukturalnya dengan γ -Tokotrienol. Proses ekstraksi ini dirangkum dalam skema yang disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Skema ekstraksi dari vitamin E rich oil (Tokotrol™ L50P, minyak sawit mentah yang terdiri dari 43% tokotrienol)

Hasil penelitian (Fayyad *and* Nazzal, 2017) menunjukkan bahwa isomer α -T, α -T3, γ -T3, dan δ -T3 berhasil diisolasi dengan kemurnian lebih dari 96%. Jumlah yang diperoleh masing-masing isomer adalah sekitar 25gram untuk α -T, 20gram untuk α -T3, 25gram untuk γ -T3, dan 15gram untuk δ -T3 namun, isomer β -T3 tidak dapat dipisahkan karena kesamaan strukturalnya dengan γ -tokotrienol, sehingga puncaknya tumpang tindih dan tidak dapat dibedakan melalui analisis HPLC. Data hasil penelitian sebelumnya dapat digunakan sebagai acuan untuk memperoleh isomer-isomer dengan kemurnian tinggi.

2.5.2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah teknik analisis yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen dalam suatu campuran berdasarkan perbedaan adsorpsi dan partisi. Metode ini sering diterapkan dalam analisis kualitatif untuk mendeteksi dan mengidentifikasi senyawa dalam sampel (Sari, 2011). Kromatografi merupakan teknik pemisahan yang menggunakan prinsip distribusi suatu senyawa pada fasa diam dan fasa gerak berdasarkan perbedaan kepolaran. Analisis kualitatif kromatografi lapis tipis didasarkan pada nilai R_f (*Retention factor*), dua senyawa dapat dikatakan identik (sama) jika mempunyai nilai R_f yang sama. Sedangkan analisis kuantitatif dilakukan dengan mengukur luas spot atau pengerokan secara langsung terhadap spot lalu penentuan kadar senyawa yang terdapat dalam spot tersebut dengan metode analisis lain (Gandjar dan Rohman, 2009). Pemisahan yang baik sangat ditentukan oleh jenis dan kondisi eluen yang digunakan dalam melakukan pekerjaan isolasi biasanya tidak menggunakan eluen tunggal tetapi menggunakan campuran dua atau tiga jenis eluen dengan perbandingan tertentu (Darmawansyah dkk., 2023)

Penelitian ini menggunakan metode yang telah dikembangkan oleh (Fayyad *and* Nazzal, 2017) di mana teknik kromatografi lapis tipis digunakan untuk menentukan apakah fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom sudah mengandung isomer yang diinginkan dan untuk mengevaluasi jumlah komponen yang ada dalam fraksi tersebut. Hasil penelitian (Fayyad *and*

Nazzal, 2017) menunjukkan bahwa teknik ini efektif dalam memantau kemurnian dan kemajuan pemisahan isomer-isomer vitamin E. Hasil TLC memberikan informasi awal yang penting untuk memastikan bahwa fraksi yang dihasilkan mengandung isomer yang diinginkan sebelum melanjutkan ke analisis lebih lanjut menggunakan metode lain seperti HPLC. Data hasil penelitian sebelumnya dapat digunakan sebagai acuan untuk memantau kemurnian dan kemajuan pemisahan isomer-isomer vitamin E menggunakan kromatografi lapis tipis.

2.5.3. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis merupakan alat yang digunakan untuk mengukur daya serap suatu cairan yang mengandung sekelompok kromofor pada panjang gelombang Cahaya tertentu digunakan untuk analisis kualitatif (Hidayah dkk., 2024). Sinar ultraviolet (UV) mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, dan sinar tampak (visible) mempunyai panjang gelombang 400-750 nm. Pengukuran spektrofotometri menggunakan alat spektrofotometer yang melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometer UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif. Spektrum UV-Vis sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Rohman, 2007).

Prinsip dasar dari spektrofotometri UV-Vis adalah interaksi antara Cahaya monokromatis dan molekul dalam larutan, di mana cahaya yang diserap menyebabkan transisi elektron dari keadaan dasar ke keadaan tereksitasi (Tulandi dkk., 2015). Metode ini juga memiliki keterbatasan, terutama ketika digunakan untuk analisis campuran kompleks, di mana absorpsi senyawa tidak bersifat selektif dan dapat menyebabkan kesalahan dalam pengukuran (Suhartati, 2017).

Detektor ini efektif dalam mendeteksi dan mengukur panjang gelombang maksimum pada sampel dan standar yang digunakan. menurut Rowells dkk (2011), umumnya vitamin E memiliki serapan pada panjang gelombang 265 nm – 318 nm dan tokotrienol memiliki serapan pada panjang gelombang sekitar 292 nm. Dengan menggunakan detektor UV-Vis, peneliti dapat mengidentifikasi lokasi puncak isomer berdasarkan absorbansi, yang penting untuk memastikan akurasi dalam kuantifikasi dan memantau kemurnian fraksi yang dihasilkan.

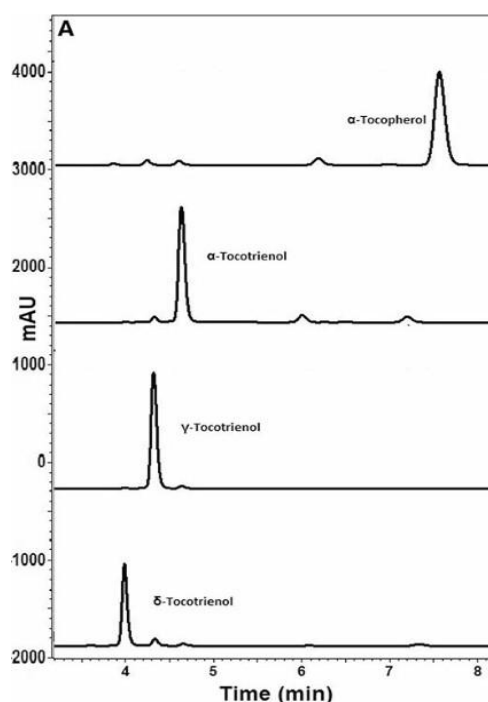
2.5.4. High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) adalah teknik analisis yang digunakan untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan mengkuantifikasi komponen individu dalam suatu campuran. Pemisahan ini dilakukan dengan cara menginjeksikan volume kecil sampel cair ke dalam kolom yang diisi dengan fase diam, kemudian memaksa fase gerak melalui kolom dengan tekanan tinggi untuk menggerakkan komponen sampel. Pemisahan bergantung pada derajat interaksi yang berbeda antara setiap komponen dan fase diam, yang menghasilkan waktu retensi yang bervariasi (Ubale *et al.*, 2025). HPLC sangat berguna di berbagai bidang, termasuk farmasi, bioteknologi, ilmu lingkungan, dan industri makanan, untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. versatilitas HPLC berasal dari kemampuannya untuk menganalisis berbagai senyawa, mulai dari molekul kecil hingga polimer besar, dengan akurasi dan sensitivitas tinggi. Aplikasi HPLC mencakup kontrol kualitas, pengembangan obat, pemantauan lingkungan, dan analisis forensik, yang menyoroti pentingnya teknik ini dalam kimia analitik modern (Ahmed, 2024).

Prinsip dasar HPLC adalah adanya proses adsorpsi dinamis di mana molekul analit akan bergerak melewati celah berpori. Material kolom (fase diam) akan berinteraksi dengan komponen sampel sehingga terjadi pemisahan. Lamanya waktu interaksi (waktu retensi) dipengaruhi oleh kekuatan interaksi dari material kolom dan komponen sampel. HPLC menggunakan dua fase kerja yaitu fase

gerak (cairan atau pelarut) yang berfungsi untuk membawa komponen campuran menuju detector, dan fase diam (partikel dengan pori yang kecil dan memiliki area permukaan tinggi) (Angraini dan Desmaniar, 2020). HPLC memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode analisis lainnya, seperti waktu analisis relatif singkat, volume sampel yang digunakan sedikit, dapat menganalisis senyawa organik dan anorganik, serta kolom yang dapat digunakan kembali. HPLC merupakan metode dengan sistem pemisahan zat yang cepat dan efisien karena menggunakan kolom, detektor yang lebih sensitif dan peka, serta kemajuan teknologi pada pompa bertekanan tinggi (Rosydiati dan Saleh, 2019).

Penelitian ini menggunakan metode yang telah dikembangkan oleh (Fayyad *and* Nazzal, 2017) di mana teknik HPLC digunakan untuk menentukan dan mengkuantifikasi isomer-isomer vitamin E, seperti α -Tokoferol, α -Tokotrienol, γ -Tokotrienol, dan δ -Tokotrienol, dengan resolusi yang tinggi dan waktu analisis kurang dari 10 menit. Pemisahan isomer dilakukan dengan menggunakan kolom Kinetex™ C18 dan fase gerak yang terdiri dari 85% metanol dan 15% campuran etanol dan asetonitril. Metode ini memungkinkan pemisahan yang efektif dari isomer-isomer tersebut, sehingga peneliti dapat memastikan kemurnian dan konsentrasi masing-masing isomer dalam fraksi yang diisolasi. HPLC juga digunakan untuk mencocokkan lokasi puncak isomer dengan data referensi, serta untuk membuat kurva kalibrasi yang diperlukan untuk kuantifikasi. Hasil analisis HPLC disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Hasil Analisis HPLC dari vitamin E rich oil (Tocotrol™ L50P, minyak sawit mentah yang terdiri dari 43 tokotrienol)

Hasil penelitian (Fayyad *and* Nazzal, 2017) menunjukkan bahwa isomer Delta-tokotrienol (δ -T3) terelusi terlebih dahulu karena sifatnya yang lebih hidrofilik, diikuti oleh Gamma-tokotrienol (γ -T3) dan Alpha-tokotrienol (α -T3), sementara Alpha-tokoferol (α -T) terelusi terakhir karena sifat lipofiliknya yang lebih tinggi. Analisis HPLC juga digunakan untuk mencocokkan lokasi puncak isomer dengan data referensi dan untuk membuat kurva kalibrasi yang diperlukan untuk kuantifikasi.

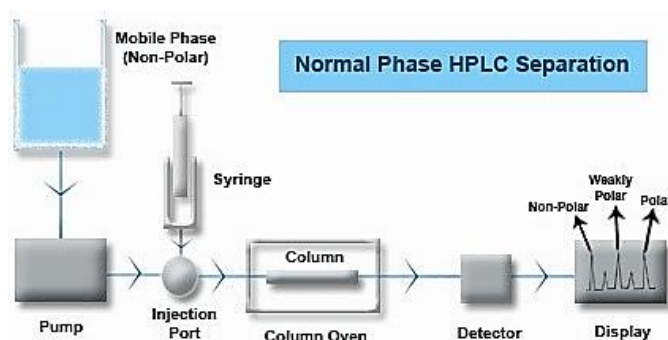
2.5.4.1. Jenis-Jenis High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Pada teknik HPLC dibagi menjadi fase normal dan fase terbalik berikut penjelasannya:

- Kromatografi fase normal (*normal-phase chromatography*) pada kromatografi fase normal digunakan fase diam polar dan menggunakan fase gerak nonpolar yang disajikan pada Gambar 6. Fase diam biasanya berupa silika gel murni atau bahan polar seperti alumina, yang memiliki gugus hidroksil aktif

dipermukaannya. Fase gerak yang digunakan terdiri dari heksana, heptana, diklorometan, kloroform, dietil eter, dan sebagainya. Dalam sistem ini senyawa yang paling nonpolar akan terelusi terlebih dahulu karena fase gerak nonpolar lebih mudah menggerakkan senyawa nonpolar melalui kolom, sedangkan senyawa polar akan berikatan lebih kuat dengan fase diam polar sehingga keluar lebih lambat. Prinsipnya adalah komponen yang lebih polar berinteraksi kuat dengan fase diam polar dan mengalami retensi yang lebih lama, sementara komponen nonpolar kurang berinteraksi sehingga keluar lebih cepat.

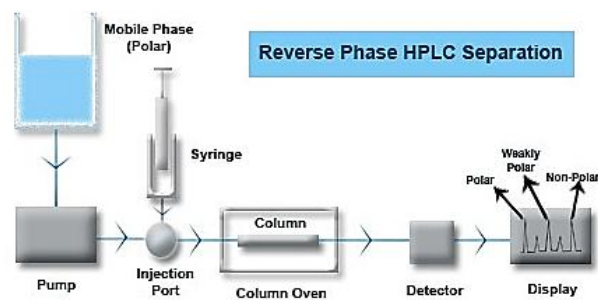
Aplikasi fase normal HPLC ini cocok untuk analisis senyawa polar seperti asam amino, gula, vitamin, senyawa aromatik, dan senyawa yang dapat membentuk kompleks dengan gugus polar. Pemilihan fase gerak nonpolar sangat penting dan sering kali dicampur sedikit pelarut polar untuk mengoptimalkan pemisahan. Dengan demikian, kromatografi fase normal sangat berguna untuk pemisahan senyawa berdasarkan polaritasnya dan biasa digunakan dalam pemurnian produk alami dan analisis biomolekul tertentu.



Gambar 6. HPLC Normal *Phase* (Arora dan Bhanot, 2014)

- b. Kromatografi fase terbalik (*reverse-phase chromatography*) pada kromatografi fase terbalik digunakan fase diam nonpolar dan menggunakan fase gerak polar yang disajikan pada Gambar 7. Fase diam yang umum digunakan adalah silika yang dimodifikasi dengan rantai alkil nonpolar seperti oktadesilsilan (C18) atau oktasilan (C8). Fase gerak yang digunakan biasanya adalah pelarut polar seperti air, metanol, asetronitril, dan tetrahidrofuran (THF).

Prinsip kromatografi fase terbalik adalah senyawa yang lebih polar akan berinteraksi lebih kuat dengan fase gerak polar sehingga akan keluar terlebih dahulu dari kolom. Sebaliknya, senyawa yang kurang polar atau nonpolar berinteraksi lebih kuat dengan fase diam nonpolar dan tertahan lebih lama di kolom. Interaksi ini biasanya berupa interaksi hidrofobik antara senyawa nonpolar dengan rantai alkil fase diam, yang mengakibatkan retensi senyawa tersebut. Teknik ini banyak digunakan dalam analisis farmasi, biokimia, lingkungan, dan makanan, terutama untuk senyawa yang sulit dipisahkan menggunakan fase normal.



Gambar 7. HPLC *Reverse Phase* (Arora dan Bhanot, 2014)

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2025 sampai Juni 2025. Sampel *High Acid Crude Palm Oil* (HACPO) didapatkan dari pabrik pengolahan minyak kelapa sawit PT Jaya Agro Mandiri, Lampung Utara. Preparasi sampel dilakukan di laboratorium kimia analitik jurusan kimia FMIPA Universitas Lampung, analisis Spektrofotometer UV-Vis dilakukan di laboratorium Kimia Analitik Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung. Pengujian HPLC dilakukan di UPT laboratorium terpadu Institut Teknologi Sumatera.

3.2. Alat dan Bahan

Adapun Alat dan Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

3.2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas beaker, gelas ukur, corong kaca, labu ukur, neraca analitik (AND), kromatografi kolom (29 cm x 2,5 cm), pelat KLT, sinar UV Kohler/SN402006, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1780) dan HPLC (Shimadzu LabSolutions).

3.2.2. Bahan

Bahan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *High Acid Crude Palm Oil* (HACPO), silika Gel 70-230 mesh, celite 545, n-heksan, etil asetat (EtOAc), asam asetat (HOAc), asam sulfat (H₂SO₄), metanol (MeOH), etanol (EtOH), 4-anisaldehida, Lieberman buchard, serum sulfat dan asetonitril.

3.3. Prosedur Penelitian

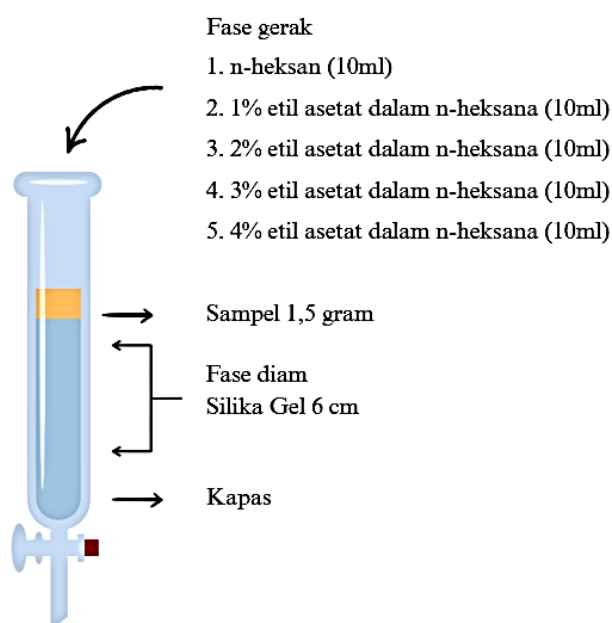
Adapun prosedur penelitian ini adalah sebagai berikut.

3.3.1. Pemisahan Menggunakan Kromatografi Kolom

Kolom kromatografi disiapkan dengan memasukkan silika gel ke dalam gelas beaker ditambahkan pelarut n-heksana sampai terendam dan diamkan semalaman, kemudian dimasukkan ke dalam kolom. 1,5 gram sampel HACPO dicampur dengan Celite 545 sebagai adsorben dan diaplikasikan ke kolom yang telah disiapkan. Kolom dielusi menggunakan pelarut n-heksan : etil asetat (10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4) disajikan pada Tabel 1. Kandungan setiap fraksi dikonfirmasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Proses pemisahan ini dirangkum dalam skema yang disajikan pada Gambar 8.

Tabel 1. Variasi Konsentrasi Pelarut Gradien

No	N-heksan (ml)	Etil Asetat (ml)
1.	10	0
2.	9	1
3.	8	2
4.	7	3
5.	6	4



Gambar 8. Skema Pemisahan Tokotrienol menggunakan kromatografi kolom

3.3.2. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Fraaksi yang telah diekstraksi dari kromatografi kolom ditotol pada pelat KLT. Sampel diletakkan pada garis dasar yang telah ditentukan. Pelat kemudian dielusi menggunakan fase gerak yang terdiri dari campuran n-heksan:etil asetat (7:3). Proses ini memungkinkan komponen dalam sampel untuk bergerak naik pada pelat. Pelat diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm menggunakan lampu UV kompak UVGL-15. Identifikasi adanya senyawa terpenoid digunakan reagen Lieberman-Buchard, 4-anisaldehyd, dan serum sulfat.

3.3.3. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Dengan Spektrofotometer UV-Vis

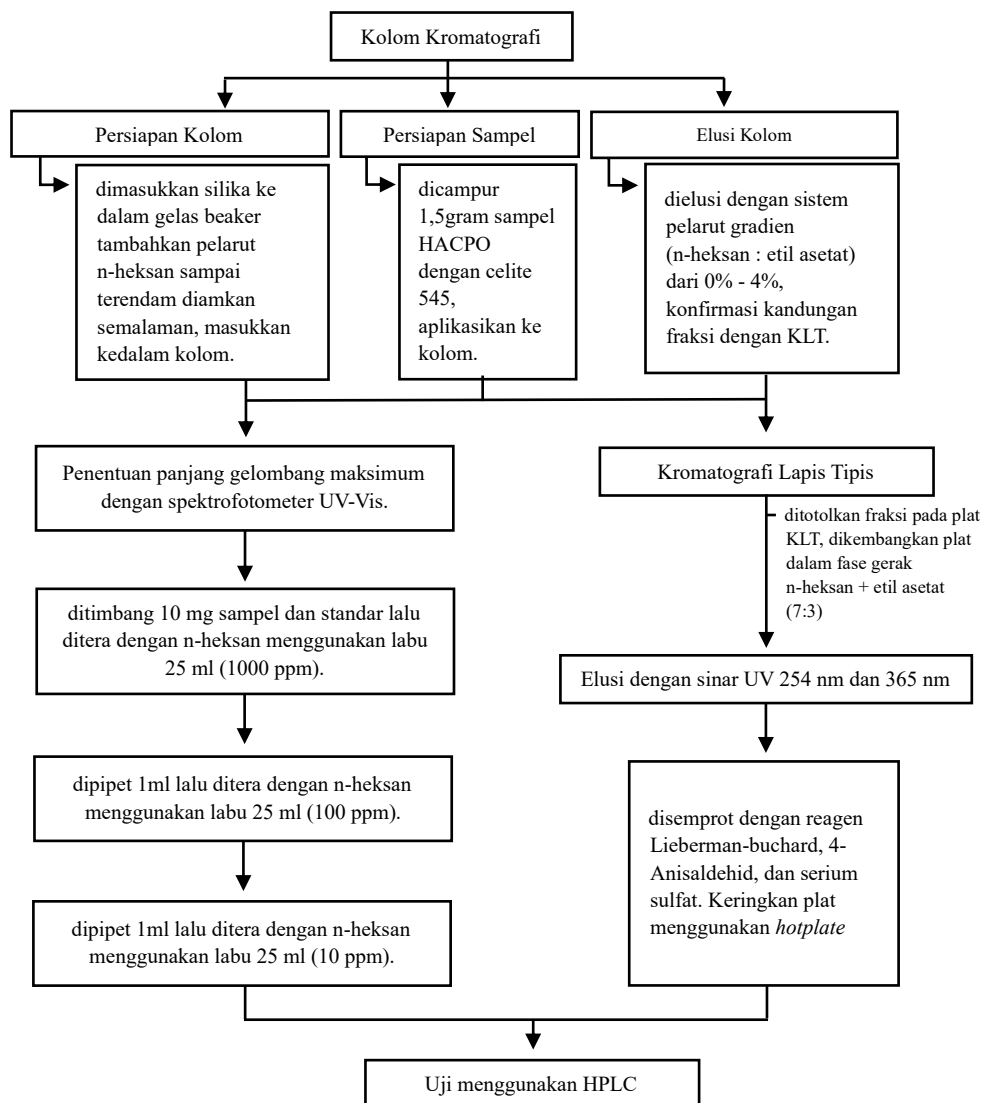
Larutan standar tokotrienol 10 mg dimasukkan ke dalam gelas kimia dilarutkan dengan n-heksan 5 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan n-heksan hingga tanda batas menghasilkan larutan induk baku 1000 ppm. Larutan induk baku 1000 ppm diambil 1 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL menghasilkan larutan standar 100 ppm. Larutan diukur dengan spektrofotometer ultraviolet pada panjang gelombang 200-400 nm. Perlakuan sama untuk mengukur panjang gelombang maksimum sampel tokotrienol.

3.3.4. Analisis High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Sampel ditimbang sebanyak 3 mg yang dilarutkan dalam 1,5 mL metanol. Disiapkan fase gerak yang terdiri dari 85% metanol, 7,5% etanol dan 7,5% asetonitril. Injeksi sampel sebanyak 20 μ L menggunakan metode *autosampler*. Kolom yang digunakan Kinetex™ C18 (5 μ m, 150 $\times$ 4,6 mm), suhu kolom 40°C, detektor PDA λ 262 nm. Waktu analisis 30 menit

3.3.5. Diagram Alir

Seluruh proses yang dilakukan dalam prosedur di atas dirangkum dalam diagram alir sebagai berikut.



Gambar 9. Diagram Alir

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut.

1. Kromatografi kolom dengan fase diam silika gel dan fase gerak n-heksan:etil asetat (9:1) dapat memisahkan dan memurnikan senyawa tokotrienol pada HACPO.
2. Kadar tokotrienol pada HACPO pada penelitian ini adalah 222,7 ppm.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat saran untuk penelitian selanjutnya yaitu melakukan optimasi lebih lanjut pada proses pemisahan (kromatografi kolom) untuk mendapatkan rendemen hasil yang lebih tinggi

DAFTAR PUSTAKA

- Abu-Fayyad, A., and Nazzal, S. (2017). Extraction of vitamin E isomers from palm oil: methodology, characterization, and in vitro anti-tumor activity. *JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 94(9), 1209–1217. <https://doi.org/10.1007/s11746-017-3025-8>
- Ahmed, R. 2024. *High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)*. 14, 524–535.
- Amalia, R., Dharmawan, A. H., Prasetyo, L. B., dan Pacheco, P. 2019. Perubahan tutupan lahan akibat ekspansi perkebunan kelapa sawit: dampak sosial, ekonomi dan ekologi. *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 17(1), 130. <https://doi.org/10.14710/jil.17.1.130-139>
- Angraini, N., 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): 69-75.
- Arnida, dan Sutomo. 2008. Identifikasi golongan senyawa kimia dari fraksi kayu sanrego (*Lunasia amara Blanco*) secara kromatografi lapis tipis. *Sains dan Terapan Kimia*, 2(1), 23–29.
- Arora, S., dan Bhanot, D. 2014. *HPLC e-Book*. Lab Training.com. Hal 19-20. Retrieved from <http://lab-training.com/product/join-our-certificate-course-on-hplc/>
- Darmawansyah, Nurlansi, dan Haeruddin. 2023. Pemisahan senyawa terpenoid ekstrak n-heksan daun kaembu-embu (*Blumea balsamifera*) menggunakan kromatografi kolom kavitasi. *Sains: Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*.12(1): 6.
- Che, H., Tan, D. M., Meganathan, P., Gan, Y., Razak, G. A., and Fu, J. 2015. Validation of a HPLC/FLD Method for quantification of tocotrienols in human validation of a HPLC/FLD method for quantification of tocotrienols in human plasma. *International Journal of Analytical Chemistry*. <https://doi.org/10.1155/2015/357609>

- Das, S., Lekli, I., Das, M., Szabo, G., Varadi, J., Juhasz, B., Bak, I., Nesaretam, K., Tosaki, A., Powell, S. R., dan Das, D. K. 2008. Cardioprotection with palm oil tocotrienols: comparison of different isomers. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 294(2), 970–978. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01200.2007>
- Ewaldo, E. 2015. Analisis ekspor minyak kelapa sawit di Indonesia. *E-Jurnal Perdagangan, Industri dan Moneter*. 3(1): 10-15
- Fajriaty, I., Hariyanto, Andres, dan Risky S. 2018. Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis dari ekstrak etanol daun bintangur (*Calophyllum soulattri* Burm. F.). *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains* 7(1): 20.
- Fritsche, S., Wang, X., and Jung, C. 2017. Recent advances in our understanding of tocopherol biosynthesis in plants: An overview of key genes, functions, and breeding of vitamin E improved crops. *Antioxidants*, 6(4). <https://doi.org/10.3390/antiox6040099>
- Gandjar, I. G., Rohman, A. 2007. *Kimia Analisis Farmasi*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Gros, Q., Wolniaczky, M., Duval, J., Horie, S., Funada, Y., Hayakawa, Y., West, C., Lesellier, E. 2023. Facilitated On-line Supercritical Fluid Extraction Supercritical Fluid Chromatography for Nonpolar and Polar Compounds From Milk Thistle Seeds. *Journal of Chromatography*. doi: 10.1016/j.chroma.2023.464168. Epub 2023 Jun 17. PMID: 37348225.
- Hasibuan, H.A. 2016. Pengaruh penundaan waktu pengolahan buah sawit terhadap berat, rendemen Crude Palm Oil (CPO) dan kernel serta mutu CPO. *Warta Pusat Penelitian Kelapa Sawit*. 20(1), 27-36.
- Hasibuan, H.A., dan Siahaan, D. 2013. Review standar minyak goreng sawit diperkaya karoten terkait fortifikasi vitamin A sebagai revisi SNI 013741-2002. *Jurnal Standardisasi* 16(1), 65-76.
- Hidayah, H., Mudrikah, S., Amelia, T., Studi Farmasi, P., dan Buana Perjuangan Karawang Abstract, U. 2024. Perbandingan Metode Analisis Instrumen HPLC dan Spektrofotometer UV-VIS. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 10(13), 377–386. <https://doi.org/10.5281/zenodo.12775619>
- Kresnawaty, I., Budiani, A., Panji, T., Suharyanto. 2012. Isolasi dan mikroenkapsulasi vitamin E dari crude palm oil sebagai sumber antioksidan bahan pangan. *Jurnal Menara Perkebunan*. 80 (2) 68-76.

- Lamaisri, C., Punsuvon, V., Chanprame, S., Arunyanark, A., Srinives, P., and Liangsakul, P. 2015. Relationship between fatty acid composition and biodiesel quality for nine commercial palm oils. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 37(4).
- Lee, M. J., Feng, W., Yang, L., Chen, Y. K., Chi, E., Liu, A., and Yang, C. S. 2018. Methods for Efficient Analysis of Tocopherols, Tocotrienols and Their Metabolites in Animal Samples With HPLC-EC. *Journal of Food and Drug Analysis*. 26(1): 354-367.
- Lodu, W., dan Karwur, F. F. 2017. Pemisahan dan identifikasi isomer tokotrienol dari Tokotrienol Rich Fraction (TRF). *Proceeding Biology Education Conference*. 14(1): 532-535.
- Maarasyid, C., Muhamad, I. I., and Supriyanto, E. 2014. Potential source and extraction of vitamin E from palm-based oils: A review. *Jurnal Teknologi*, 69(4).
- Makky, M., and Soni, P. 2014. In situ quality assessment of intact oil palm fresh fruit bunches using rapid portable non-contact and non destructive approach. *Journal of Food Engineering*, 120, 248-259.
- Mancini, A., Imperlini, E., Nigro, E., Montagnese, C., Daniele, A., Orrù, S., and Buono, P. 2015. Biological and nutritional properties of palm oil and palmitic acid: Effects on health. *Molecules*, 20(9), 17339–17361. <https://doi.org/10.3390/molecules200917339>
- Mansor, S. M., Kamarudin, M. N., and Abdul Rahman, M. B. 2019. Health benefits of tocotrienols: A review. *Journal of Nutritional Science*. 8(5).
- Mason, J. E., van der Meer, P., and Phelps, J. 2022. Sustainable palm oil: A global overview of certification and standards. *Environmental Science and Policy*. 128(5) 121-129.
- Nugroho, D., Sari, I. P., dan Wahyuni, S. 2022. Optimasi Kondisi Kristalisasi pada Pembuatan Fraksi Kaya Tokotrienol dari Distilat Asam Lemak Minyak Sawit. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*. 6(1) 38-51
- Pahan, I. 2012. *Panduan Lengkap Kelapa Sawit, Manajemen Agribisnis dari Hulu ke Hilir*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Ramdiah, S. 2011. Seminar nasional X pendidikan biologi FKIP UNS. *Jurnal*, 4 (Tabel 1), 1–7.
- Rifin, A. 2017. Efisiensi perusahaan Crude Palm Oil (CPO) di Indonesia. *Jurnal Manajemen dan Agribisnis*. 14(2), 103.

- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Cetakan I. Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Rosydiati., Saleh, K. E. 2019. Karakterisasi Puncak Kromatogram Dalam High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Terhadap Perbedaan Fase Gerak, Laju Alir, Dan Penambahan Asam Dalam Analisis Indole Acetic Acid (IAA) (Characterization Of Peak Chromatography In HPLC Influenced By Differences Of Mobile Phase, Flow Rate, And Addition Of Acid In Analysis Of Indole Acetic Acid (IAA)). *KANDAGA*. 1(2).
- Rowells, S., Oral, E., and Muratoglu, K. 2011. *Detection Of Vitamin E In Irradiate*. UHMWPE By Uv-visible spectroscopy.
- Sari, J., F. 2011. *Penerapan Metode Kromatografi Lapisan Tipis (KLT)*. Universitas Airlangga.
- Setiowati, R.D., Panjaitan, F.R., Sujadi, Lubis, M.I., Ernayunita, dan Yenni, Y. 2021. Studi Pendahuluan Kandungan Vitamin E Pada Varietas Kelapa Sawit Ppks. *J. Pen. Kelapa Sawi*. 29(3): 159-166.
- Snyder, L. R., Kirkland, J. J. and Dolan, J. W. 2011. *Introduction to Modern Liquid Chromatography* (3rd). Wiley.
- Suhail, M., dan Sari, D. 2021. Pengolahan minyak kelapa sawit menjadi High Acid Crude Palm Oil. *Jurnal Energi dan Sumber Daya Mineral*. 12(1), 45-52.
- Suhartati, T. 2017. Dasar-dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrofotometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik. *CV. Anugrah Utama Raharja*.
- Sundram, E. A. 2003. Palm fruit chemistry and nutrition. *Asia Pac J Clin Nutr*. 12 : 355-362.
- Suryani, D., Yulianti, A., Maghfiroh, E. L., dan Alber, J. 2022. Klasifikasi kualitas produk kelapa sawit menggunakan metode naïve bayes quality classification of palm oil products using naïve bayes method. *Jurnal Sistem Informasi 11*, 251–259.
- Tulandi, A., Sudewi, S., dan Lolo, S. 2015. Spektroskopi UV-Vis: Prinsip, Cara Kerja, Hukum Lambert Beer. *Jurnal Pendidikan dan Konseling*. 5(1), 12-20.
- Ubale, H. H., Mane, S. R., and Bais, S. K. 2025. *Review on HPLC : Principles Techniques and Applications in Modern Analytical Science*. 3(1), 3225-3239.

- Wati, N. F. N. 2014. Peningkatan kualitas minyak nilai melalui proses adsorpsi menggunakan adsorben γ -Alumina dengan sistem flow. *Indonesian Journal of Chemical Research*. 2(1).
- Widiantara, M. I., Yulianti, dan Basri. S. B. Ekstraksi beta karoten dari buah kelapa sawit (*Elaeis Guineensis*) dengan dua jenis pelarut. *Gorontalo Agriculture Technology Journal*. 3(1): 38-44.
- Yusoff, M. S., and Choo, Y. M. 2019. The role of palm oil in food industry: A Review. *Journal of Food Science and Technology*. 56(1) 1-10. doi:10.1007/s11483-018-0301-2.
- Zulkarnain, A., Wahyuningtias, D., and Putranto, S. T. 2018. Analysis of IF_L, EFE and QSPM matrix on business development strategy, series earth and Environmental Science 126, 10.1088/1755-1315/126/1/01206