PENGARUH PERBANDINGAN FASE GERAK KLOROFORM DAN METANOL TERHADAP EKSTRAKSI DAN ISOLASI β-KAROTEN MINYAK DARI SPENT BLEACHING EARTH DENGAN METODE KROMATOGRAFI KOLOM

Skripsi

Oleh

Rika Davita 2014051040



JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS LAMPUNG 2025

ABSTRACT

THE EFFECT OF THE CHLOROFORM AND METHANOL MOBILE PHASE RATIO ON THE EXTRACTION AND ISOLATION OF THE β-CAROTENE FROM SPENT BLEACHING EARTH OIL USING CHROMATOGRAPHY COLUMN METHOD

By

RIKA DAVITA

The refining process of CPO produced Spent Bleaching Earth (SBE) waste, which still contained 20-40% oil and β-carotene pigments that could be extracted and utilized for other purposes. However, the extracted β-carotene was still in a mixed form, so a purification process was necessary to obtain pure β-carotene using the column chromatography method. The purpose of this study was to determine the best solvent combination that yielded the highest \beta-carotene concentration in oil extracted from SBE using the chromatography column method. This research was conducted using a single-factor Randomized Complete Group Design (RAKL) with four replications. The treatments consisted of six levels of chloroform and methanol solvent combinations: P1 (100:0); P2 (97:3); P3 (80:20); P4 (50:50); P5 (20:80); and P6 (0:100). Data on crude β -carotene yield, crude β -carotene identification, β carotene content in the eluate, and β-carotene yield were analyzed for homogeneity of variance using Bartlett's test, and the data's additivity was tested using Tukey's test. The data were then analyzed using analysis of variance (ANOVA) and followed by a Least Significant Difference (BNT) test at the 5% significance level. The results showed that the chloroform: methanol (100:0) solvent combination yielded the highest β -carotene with crude β -carotene yield, crude β -carotene content in eluate, RF value of crude β -carotene, and β -carotene yield in eluate of 29.085%, 239.861 ppm, 0.669, and 0.024%, respectively.

Keywords: β-carotene, extraction, chromatography column, Spent Bleaching Earth (SBE)

ABSTRAK

PENGARUH PERBANDINGAN FASE GERAK KLOROFORM DAN METANOL TERHADAP EKSTRAKSI DAN ISOLASI β-KAROTEN MINYAK DARI SPENT BLEACHING EARTH DENGAN METODE KROMATOGRAFI KOLOM

Oleh

RIKA DAVITA

Proses pemurnian CPO menghasilkan limbah Spent Bleaching Earth (SBE) yang masih mengandung minyak sebanyak 20-40% serta zat warna β-karoten yang dapat diekstrak dan dimanfaatkan untuk kepentingan lainnya. Namun, β-karoten yang terekstrak masih berupa campuran sehingga harus dilakukan proses pemurnian terlebih dahulu untuk memperoleh β-karoten murni dengan metode kromatografi kolom. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan pelarut terbaik yang menghasilkan konsentrasi β-karoten tertinggi pada minyak yang diperoleh dari SBE dengan metode kromatografi kolom. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) faktor tunggal dengan empat kali ulangan. Perlakuan terdiri dari perbandingan pelarut kloroform dan methanol sebanyak 6 taraf yaitu P1(100:0); P2 (97:3); P3 (80:20); P4 (50:50); P5 (20:80); P6 (0:100). Data rendemen crude β-karoten, identifikasi crude β-karoten, kadar β-karoten dalam eluat, dan rendemen β-karoten dianalisis kesamaan ragamnya dengan uji Bartlett dan kemenambahan datanya menggunakan uji Tuckey. Data selanjutnya dianalisis dengan sidik ragam lalu diuji lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbandingan pelarut kloroform : metanol (100:0) menghasilkan rendemen βkaroten tertinggi dengan nilai rendemen crude β-karoten, kadar crude β-karoten eluat, nilai RF crude β-karoten, dan rendemen β-karoten eluat dengan nilai berturutturut sebesar 29,085%, 239,861 ppm, 0,669, dan 0,024%.

Kata kunci: β-karoten, ekstraksi, kromatografi kolom, *Spent Bleaching Earth* (SBE)

PENGARUH PERBANDINGAN FASE GERAK KLOROFORM DAN METANOL TERHADAP EKSTRAKSI DAN ISOLASI β-KAROTEN MINYAK DARI SPENT BLEACHING EARTH DENGAN METODE KROMATOGRAFI KOLOM

Oleh

RIKA DAVITA

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN

pada

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung



JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS LAMPUNG 2025 Judul Skripsi

PENGARUH PERBANDINGAN FASE GERAK KLOROFORM DAN METANOL TERHADAP EKSTRAKSI DAN ISOLASI β-KAROTEN MINYAK DARI SPENT BLEACHING EARTH DENGAN METODE KROMATOGRAFI KOLOM

Nama

Rika Davita

Nomor Pokok Mahasiswa

2014051040

Program Studi

Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas

Pertanian /

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Dr. In Ribut Sugiharto, M.Sc. NIP. 19660314 199003 1 009

Dr. Ir. Subeki, M.Si., M.Sc. NIP. 19680409 199303 1 002

2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian

Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A., C.EIA. NIP. 19721006 199 03 1 005

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Dr. Ir. Ribut Sugiharto, M.Sc.

Sekretaris : Dr. Ir. Subeki, M.Sc., M.Si.

Penguji
Bukan Pembimbing : Prof. Dr. Ir. Siti Nurdjanah, M.Sc.

2. Dekan Fakultas Pertanian

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 20 Juni 2025

19641118 198902 1 002

Ruswanta Futas Hidayat, M.P.

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama: Rika Davita

NPM: 2014051040

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil kerja saya sendiri yang berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain dari plagiat karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat saya pertanggungjawabkan. Apabila di kemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 20 Juni 2025 Pembuat pernyataan



Rika Davita 2014051040

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 28 Agustus 2001 sebagai anak kedua dari tiga bersaudara, dari pasangan Bapak Robiih dan Ibu Jamsi. Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SD Negeri 1 Kali Balau Kencana pada tahun 2014, kemudian melanjutkan pendidikan sekolah menengah pertama di SMP Negeri 23 Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2017. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan pendidikan sekolah menengah atas di MAN 2 Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2020.

Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2020 melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Tahun 2023, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Pekon Suka Negara, Kecamatan Pesisir Tengah, Kabupaten Pesisir Barat. Pada tahun yang sama penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di PT. Great Giant Pineapple (GGP), Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung dengan judul "Penggunaan Kemasan Aseptik dan Non Aseptik pada Produk *Pineapple Juice Concentrate* (PJC) di PT. Great Giant Pineapple (GGP)"

SANWACANA

Alhamdulillahirabbil'alamin, puji dan syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Pengaruh Perbandingan Fase Gerak Kloroform dan Metanol terhadap Ekstraksi dan Isolasi β-Karoten Minyak dari *Spent Bleaching Earth* dengan Metode Kromatografi Kolom" dengan baik. Sholawat serta salam semoga selalu tercurah kepada Nabi Muhammad Shallallahu'alaihi wasallam. Selama pelaksanaan dan penulisan skripsi, penulis mendapatkan banyak bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis hendak mengucapkan terima kasih kepada:

- 1. Bapak Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
- 2. Bapak Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A., C.EIA., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
- 3. Bapak Prof. Dr. Ir. Samsul Rizal, M.Si., selaku Koordinator Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
- 4. Bapak Dr. Ir. Ribut Sugiharto, M.Sc., selaku dosen pembimbing akademik sekaligus dosen pembimbing pertama yang telah bersedia meluangkan waktunya untuk membimbing, memberi arahan, saran, nasihat, serta banyak bantuan selama perkuliahan, pelaksanaan, dan penyusunan skripsi ini.
- 5. Bapak Dr. Ir. Subeki, M.Si., M.Sc., selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, bantuan, dan motivasi kepada penulis selama pelaksanaan dan penyusunan skripsi.
- 6. Ibu Prof. Dr. Ir. Siti Nurdjanah, M.Sc., selaku dosen pembahas yang telah memberikan saran, masukan, arahan, dan evaluasi kepada penulis dalam penyusunan skripsi sehingga skripsi ini dapat lebih baik.

- 7. Bapak dan Ibu dosen pengajar atas ilmu yang telah diberikan selama perkuliahan, staf administrasi, serta pranata Laboratorium THP atas bantuannya selama penulis melaksanakan penelitian dan perkuliahan
- 8. Orang tua tercinta Ayah Robiih dan Ibu Jamsi, dua orang yang sangat berjasa dalam hidup penulis, dua orang yang selalu mengusahakan anaknya untuk menempuh pendidikan setinggi-tingginya meskipun mereka berdua hanya dapat menempuh pendidikan sampai tahap dasar. Jazaakumullah khairan atas segala pengorbanan, doa, kasih sayang, kesabaran, dan dukungan abah mamah sehingga penulis mampu menyelesaikan studinya sampai meraih gelar sarjana.
- Kakak yang kusayangi Reni Septiana, M.Pd. dan kakak ipar Rosidin, M.Pd. serta adik yang kusayangi Faza Saffanah Maulida yang telah memberikan banyak bantuan dan dorongan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
- 10. Sahabat yang bertemu saat perkuliahan Rahma, Ayu, Dinda, Aisyah, dan Eka serta sahabat sekolah Renita yang telah memberikan bantuan, saran, motivasi dan semangat kepada penulis dalam menyelesaikan perkuliahan dan penelitian.
- 11. Tim penelitian Ade Irma Yunita, Diah Ayu Pangastuti, Salsabilla Aisyah Wijaya, Victorinus Danu Anggoro, Safitri Adiningrum yang berjuang bersama selama penelitian, memberikan banyak bantuan, tempat berkeluh kesah, dan saling memotivasi untuk tetap menyelesaikan proses yang tidak mudah ini.
- 12. Seluruh teman-teman dan kakak-kakak THP yang telah memberikan saran dan masukan kepada penulis dalam menyelesaikan perkuliahan dan skripsi.

Penulis sangat menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, namun semua ini dapat dijadikan suatu pengalaman dan proses pembelajaran bagi penulis untuk menjadi lebih baik. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat dan pengetahuan bagi penulis maupun pembaca.

Bandar Lampung, 20 Juni 2025

Rika Davita

DAFTAR ISI

DA	FTAR TABEL	Halaman xiii
	FTAR GAMBAR	XV
I.	PENDAHULUAN	1
	1.1. Latar Belakang dan Masalah	1
	1.2. Tujuan Penelitian	3
	1.3. Kerangka Pemikiran	3
	1.4. Hipotesis	5
II.	TINJAUAN PUSTAKA	6
	2.1. Spent Bleaching Earth (SBE)	6
	2.2. Ekstraksi	7
	2.3. β-Karoten	8
	2.4. Kromatografi kolom	9
	2.5. Silika Gel	10
	2.6. Pelarut	11
	2.6.1. Kloroform 2.6.2. Metanol 2.6.3. Heksana 2.6.4. Aseton	11 12 12 13
III.	METODOLOGI	15
	3.1. Waktu dan Tempat	15
	3.2. Bahan dan Alat	15
	3.3. Metode Penelitian	15
	3.4. Prosedur Penelitian	16
	3.4.1. Ekstraksi Minyak Spent Bleaching Earth (SBE)	16 18

	3.5. Pengamatan	19
	 3.5.1. Rendemen <i>Crude</i> β-karoten 3.5.2. Identifikasi Crude β-karoten 3.5.3. Kadar β-karoten dalam Eluat 3.5.4. Rendemen β-karoten 	19 19 20 20
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	21
	4.1. Rendemen Crude β-karoten	21
	4.2. Identifikasi Crude β-karoten	23
	4.3. Kadar β-karoten dalam Eluat	27
	4.4. Rendemen β-karoten	28
	4.5. Penentuan Perlakuan Terbaik	30
V.	KESIMPULAN	31
	5.1. Kesimpulan	31
DA	FTAR PUSTAKA	32
LA	MPIRAN	39

DAFTAR TABEL

Tab		Halaman
1.	Sifat fisik β-karoten	
2.	Sifat fisik kimia heksana	13
3.	Hasil uji BNT 5% rendemen <i>crude</i> β-karoten dengan pengaruh perbandingan pelarut kloroform dan metanol	22
4.	Hasil uji BNT 5% identifikasi <i>crude</i> β-karoten dengan pengaruh perbandingan pelarut kloroform dan metanol	24
5.	Hasil uji BNT 5% kadar β-karoten dalam eluat dengan pengaruh perbandingan pelarut kloroform dan metanol	27
6.	Hasil uji BNT 5% rendemen β-karoten dengan pengaruh perbandingan pelarut kloroform dan metanol	29
7.	Penentuan perlakuan terbaik metode bintang	30
8.	Data rendemen <i>crude</i> β-karoten	40
9.	Uji kehomogenan ragam (bartlett's test) rendemen crude β-karoten	40
10.	Analisis ragam rendemen <i>crude</i> β-karoten	40
11.	Uji lanjut BNT 5% rendemen <i>crude</i> β-karoten	41
12.	Data nilai identifikasi <i>crude</i> β-karoten	41
13.	Uji kehomogenan ragam (<i>bartlett's test</i>) nilai identifikasi <i>crude</i> β-karoten	41
14.	Analisis ragam nilai identifikasi <i>crude</i> β-karoten	42
15.	Uji lanjut BNT 5% identifikasi <i>crude</i> β-karoten	42
16.	Data nilai kadar β-karoten dalam eluat	42
17.	Uji kehomogenan ragam (<i>bartlett's test</i>) kadar β-karoten dalam eluat	42
18.	Analisis ragam kadar β-karoten dalam eluat	43
19.	Uji lanjut BNT 5% kadar β-karoten dalam eluat	43
20.	Data nilai rendemen β-karoten	43
21.	Uji Kehomogenan ragam (bartlett's test) rendemen β-karoten	44

22.	Analisis ragam rendemen β-karoten	44
23.	Uji lanjut BNT 5% rendemen β-karoten	44
24.	Absorbansi kurva standar β-karoten	45
25.	Absorbansi dari sampel	45

DAFTAR GAMBAR

Gai	mbar	Halaman
1.	Bleaching earth	6
2.	Spent bleaching earth	7
3.	Struktur kimia β-karoten	8
4.	Struktur silika gel	11
5.	Struktur kimia kloroforom	11
6.	Struktur kimia metanol.	12
7.	Struktur kimia heksana.	13
8.	Struktur kimia aseton	14
9.	Diagram alir ekstraksi minyak dalam SBE dengan metode maserasi	17
10.	Diagram alir isolasi β -karoten menggunakan kromatografi kolom	18
11.	Minyak SBE hasil maserasi	21
12.	Hasil Thin Layer Chromatography (TLC) dibawah sinar UV	26
13.	Kurva standar β-karoten	45
14.	Proses ekstraksi maserasi	46
15.	Proses kromatografi kolom	47
16.	Proses TLC	48
17.	Proses pengukuran absorbansi	49

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang dan Masalah

Salah satu komoditas hasil perkebunan yang mempunyai peran cukup penting dalam perekonomian di Indonesia adalah kelapa sawit (Feni dan Marwan, 2023). Adapun produk utama dari pengolahan sawit adalah *Crude Palm Oil* (CPO). CPO atau dikenal juga dengan minyak sawit mentah didapatkan dari *mesocarp* buah pohon kelapa sawit yang secara alami berwarna merah. Warna merah tersebut disebabkan oleh adanya pigmen karotenoid yang sebagian besar terdiri dari β-karoten (Mahmud, 2019).

Industri hilir yang paling banyak menyerap CPO adalah industri minyak goreng yang proses pengolahannya memerlukan pemurnian (refinery) (Amelia et al., 2023). Proses tersebut terdiri dari beberapa tahap, salah satunya yaitu proses pemucatan (bleaching) menggunakan tanah pemucat atau bleaching earth dengan kadar 0,5-2,0% dari massa CPO untuk menghasilkan warna CPO yang diinginkan. Penggunaan bleaching earth menyebabkan warna CPO menjadi lebih terang. Hal tersebut disebabkan karena bleaching earth menyerap sebagian dari karotenoid yang terkandung dalam CPO (Ria, 2018). Menurut BPS (2023) produksi CPO di Indonesia pada tahun 2022 mengalami peningkatan dari tahun sebelumnya yaitu dari 45,12 juta ton menjadi 46,82 juta ton. Apabila kadar bleaching earth yang digunakan untuk proses pemurnian CPO 0,5%, maka dibutuhkan bleaching earth sebanyak 234.100 ton.

Proses *bleaching* menghasilkan limbah padat berupa *Spent Bleaching Earth* (SBE). Berdasarkan hal tersebut, semakin banyak CPO yang di *bleaching* maka jumlah SBE yang dihasilkan akan semakin meningkat juga. Saat ini industri pemurnian minyak sawit umumnya hanya menimbun SBE pada suatu lahan (*landfill*)

(Rahmawati, 2022). Penimbunan SBE dapat menyebabkan masalah lingkungan seperti potensi masalah pembakaran spontan (Merikhy *et al.*, 2019). SBE mengandung minyak nabati yang ikut terserap selama proses *bleaching* yaitu sekitar 20-40%. Selain minyak, zat warna β-karoten juga ikut terserap pada SBE, sehingga menjadi suatu bahan yang sangat potensial untuk dimanfaatkan (Sinaga, 2021). Salah satunya adalah dengan mendapatkan atau pengambilan kembali β-karoten dari SBE.

β-karoten mempunyai berbagai manfaat untuk kesehatan manusia diantaranya yaitu sebagai prekursor vitamin A, antioksidan, serta memperbaiki sistem respon imun dan penetralan radikal bebas yang berpotensi mengakibatkan penyakit kanker (Mba et al., 2015). Senyawa β-karoten digunakan dalam bidang industri farmasi, kosmetik, serta sebagai bahan untuk pangan fungsional yang kaitannya dengan sifat fungsional dan sebagai pewarna makanan. Menurut ITC Trade map (2021) selama tahun 2020 untuk memenuhi kebutuhan vitamin A domestik, Indonesia mengimpor vitamin A mencapai 517 ton (Paspi, 2021). Sementara itu, Indonesia adalah produsen minyak sawit terbesar di dunia, yang didalamnya terkandung vitamin A yang melimpah. Berbagai fakta tersebut mendorong industri untuk memproduksi senyawa karotenoid secara komersial dengan berbagai metode seperti sintetis kimia, fermentasi, dan juga isolasi dari bahan alam (Wijaya et al., 2018).

Berdasarkan studi literatur diketahui bahwa limbah SBE mengandung senyawa β-karoten yang berasal dari CPO (Sinaga, 2021). β-karoten tersebut dapat diperoleh kembali melalui cara ekstraksi, tetapi β-karoten yang terekstrak masih berupa campuran sehingga harus dilakukan proses pemurnian terlebih dahulu untuk memperoleh β-karoten murni (Wahyuni dan Widjanarko, 2015). Salah satu teknik isolasi yang dapat diterapkan untuk memisahkan campuran adalah dengan menggunakan kromatografi kolom (Badaring *et al.*, 2020). Kromatografi kolom adalah pemisahan komponen-komponen dalam sampel dengan cara mengalirkan sampel melalui suatu kolom. Sampel dibawa oleh fase gerak, sedangkan kolom berisi suatu bahan yang disebut fase diam. Isolasi yang baik sangat ditentukan oleh jenis eluen karena kepolaran dari senyawa organik berbeda-beda. Saat melakukan

isolasi biasanya tidak menggunakan eluen tunggal tetapi menggunakan campuran dua atau tiga jenis eluen dengan perbandingan tertentu (Darmawansyah *et al.*, 2023).

Jenis eluen yang digunakan pada kromatografi kolom dipilih supaya senyawa yang berbeda dapat dipisahkan secara efektif (Lestari, 2022). Namun, sampai saat ini belum ada penelitian yang melakukan isolasi β-karoten dari limbah SBE. Maka dari itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui penggunaan pelarut yang tepat. Berdasarkan latar belakang diatas penelitian ini diharapkan dapat mengoptimalkan pemanfaatan SBE serta menghasilkan produk β-karoten murni. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk memisahkan β-karoten dalam minyak yang diperoleh dari *Spent Bleaching Earth* menggunakan metode kromatografi kolom dengan perbandingan pelarut.

1.2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan pelarut terbaik yang menghasilkan konsentrasi β-karoten tertinggi pada minyak yang diperoleh dari *Spent Bleaching Earth* dengan metode kromatografi kolom.

1.3. Kerangka Pemikiran

Spent Bleaching Earth (SBE) merupakan limbah padat yang dihasilkan dari proses pemurnian minyak sawit (CPO) (Sinaga, 2021). Selain itu, SBE juga terdiri dari campuran tanah liat dan minyak sehingga penanganannya harus ditangani dengan hati-hati karena sifatnya yang mudah terbakar. Kandungan CPO yang terkandung pada SBE berkisar antara 20-40% (Amelia *et al.*, 2023). CPO dan SBE mengandung β-karoten cukup tinggi, yaitu antara 500-700 ppm (Dayanti, 2024).

SBE berpotensi untuk dimanfaatkan dengan cara mengekstraksi CPO dan pigmen β-karoten yang terdapat dalam SBE. Selanjutnya ekstrak β-karoten dimurnikan dengan metode kromatografi kolom. Prinsip dari kromatografi kolom yaitu adanya

perbedaan daya serap dari masing-masing komponen yang akan diuji. Sampel dilarutkan dalam pelarut lalu dimasukkan ke dalam kromatografi kolom melalui puncak kolom dan larutan tersebut akan mengalir ke dalam fase diam yang kemudian berpindah ke bawah sambil terjadi pemisahan (Adrian *et al.*, 2021). Fase diam akan menahan komponen campuran sedangkan fase gerak akan melarutkan zat komponen campuran. Komponen yang lebih cenderung terdistribusi ke dalam fase diam akan tertahan dan terelusi lebih lama, sedangkan komponen yang lebih terdistribusi ke fase gerak akan bergerak lebih cepat dan terelusi terlebih dahulu.

Salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan isolasi menggunakan kromatografi kolom adalah pelarut atau eluen (Hujjatusnaini, 2018). Pemilihan pelarut yang tepat dapat mendukung keberhasilan dalam isolasi senyawa dari komponen campuran. Pemilihan pelarut juga tergantung pada jenis adsorben yang digunakan dan kemurnian senyawa yang dipisahkan. Pelarut harus memiliki kemurnian yang tinggi karena adanya keberadaan komponen penggangu seperti air, alkohol, ataupun asam pada pelarut yang kurang polar sehingga akan mengganggu aktivitas adsorben. Urutan kepolaran eluen dalam mengelusi senyawa pada kromatografi yaitu air > metanol > etanol > aseton > etil asetat > dietil eter > kloroform > benzene > karbon tetraklorida > petroleum eter (Safitri, 2016).

Beberapa penelitian telah dilakukan terkait dengan isolasi β-karoten menggunakan metode kromatografi kolom. Silaa *et al.* (2019) dalam penelitiannya melakukan isolasi jenis pigmen karotenoid dari ekstrak karapas kepiting *Grapsus* sp. jantan menggunakan pelarut heksana dan aseton, hasilnya menunjukkan bahwa jenis pigmen yang teridentifikasi adalah β-karoten, ekinenon, astaxantin, kantaxantin, dan astasen. Kresnawaty *et al.* (2012) melakukan isolasi dari CPO (*Crude Palm Oil*) menggunakan dua variasi eluen, yaitu 1) petroleum benzena : dietil eter : asam asetat (70 : 30 : 0,2) dan 2) heksana. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa terjadi isolasi antara β-karoten dengan tokoferol, akan tetapi pelarut heksana lebih menunjukkan isolasi yang cukup jelas dari eluen pertama karena bersifat lebih non polar. Noviyanti (2010) melakukan isolasi dari ekstrak buah merah (*Pandanus*

conoideus Lamk.) menggunakan eluen petroleum eter dan dietil eter hasilnya yaitu β-karoten dapat terpisah dari trigliserida.

Mangunsong *et al.* (2019) dalam penelitiannya menentukan β-karoten dalam buah wortel menggunakan beberapa perbandingan pelarut, diantaranya yaitu metanol : kloroform (95 : 5); metanol : tetrahidrofuran : air (67 : 27 : 6); kloroform : tetrahidrofuran : air (67 : 27 : 6); asetonitril : kloroform (92 : 8); kloroform : metanol (95 : 5); dan kloroform : tetrahidrofuran : metanol (70 : 25 : 5), hasilnya menunjukkan bahwa kloroform : metanol (95 : 5) merupakan perbandingan pelarut terbaik. Menurut prinsip *like disolved like*, suatu pelarut akan cenderung melarutkan senyawa yang mempunyai tingkat kepolaran yang sama. β-karoten bersifat non polar sehingga dapat dipisahkan dengan pelarut non polar seperti kloroform. Metanol juga merupakan salah satu pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam karena bersifat universal dengan gugus hidroksil yang bersifat polar (OH) dan gugus alkil yang bersifat non polar (CH₃), sehingga dapat menarik sebagian besar senyawa baik yang bersifat polar maupun non polar pada bahan (Fajarullah *et al.*, 2014).

Berbagai perbandingan fase gerak telah digunakan pada penelitian terdahulu untuk memisahkan β -karoten dari bahan alam. Namun, berdasarkan penelitian tersebut belum terdapat penelitian yang menggunakan bahan hasil ekstraksi minyak dari SBE. Oleh karena itu, penelitian yang telah dilakukan sebelumnya akan dijadikan acuan dalam penelitian ini agar diketahui efek dari perbandingan pelarut yang digunakan yaitu kloroform dan metanol terhadap hasil isolasi β -karoten menggunakan metode kromatografi kolom.

1.4. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah terdapat perbandingan pelarut terbaik yang menghasilkan konsentrasi β-karoten tertinggi pada minyak yang diperoleh dari *spent bleaching earth* dengan metode kromatografi kolom.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Spent Bleaching Earth (SBE)

Proses yang paling banyak menghasilkan limbah pada proses pemurnian CPO adalah proses pemucatan menggunakan tanah pemucat (*bleaching earth*) dengan kadar 0,5-1,0% dari massa CPO (Muslich *et al.*, 2020). Warna semula *bleaching earth* adalah putih kekuningan (Gambar 1). Namun, setelah melalui proses pemurnian CPO warnanya akan berubah menjadi kecokelatan dan dinamakan sebagai *spent bleaching earth* (SBE) yang disajikan pada Gambar 2 (Zakiyah, 2023). Sebagian besar senyawa organik pada SBE yang berasal dari CPO terdiri dari senyawa trigliserida dan komponen organik lainnya, seperti digliserida, asam lemak bebas, protein, zat warna alami, dan *wax*. SBE juga mengandung asam fosfat yang berasal dari proses penghilangan *gum*/getah (*degumming*). Komponen kimia anorganik utama SBE terdiri atas SiO₂, Al₂O₃, MgO, Fe₂O₃, dan CaO (Amelia *et al.*, 2023). *Bleaching earth* dan *Spent Bleaching Earth* (SBE) disajikan pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. *Bleaching earth* (Sumber: Yudi *et al.*, 2018)



Gambar 2. *Spent bleaching earth* (Sumber: Robiansyah *et al.*, 2022)

Spent Bleaching Earth (SBE) merupakan limbah terbesar pada industri pemurnian CPO. Jumlah minyak yang terserap pada SBE berkisar antara 20 - 40% (Rahmayanti et al., 2024). SBE hasil dari proses pemurnian tidak dapat lagi digunakan sebagai bahan pemurni CPO. SBE termasuk dalam limbah bahan beracun berbahaya (B3) kategori 2 dari sumber spesifik khusus dengan kode limbah B413 (Lampiran IX PP 22/2021). Artinya limbah tersebut memiliki efek tunda (delayed effect) serta berdampak tidak langsung terhadap manusia dan lingkungan hidup. SBE dikategorikan sebagai limbah B3 karena mengandung minyak yang tinggi serta memiliki karakteristik yang mudah menyala dan bersifat korosif. SBE dapat dikategorikan sebagai limbah non-B3 apabila kandungan minyaknya di tidak lebih dari 3%. Hal tersebut termuat dalam Peraturan Pemerintah Nomor 22 Tahun 2021 tentang Penyelenggaraan Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup Lampiran XIV (Amelia et al., 2023).

2.2. Ekstraksi

Menurut Sakinah (2019), ekstraksi merupakan salah cara untuk memisahkan campuran dari beberapa zat menjadi komponen-komponen yang terpisah. Sedangkan pengertian ekstraksi menurut Sah (2016) yaitu proses pemisahan dengan pelarut yang melibatkan perpindahan zat terlarut ke dalam pelarut untuk memperoleh ekstrak. Ekstraksi dapat dilakukan menggunakan pelarut non polar, semi polar, dan juga polar sehingga diperoleh ekstrak yang mengandung senyawa

non polar, semi polar, dan polar. Beberapa metode ekstraksi yang biasa digunakan diantaranya yaitu maserasi, perkolasi, soxhlet, refluks, destilasi uap, dan sonikasi (Andrianto, 2016).

2.3. **B-Karoten**

β-karoten merupakan pigmen organik yang berwarna kuning, oranye atau merah oranye yang dapat terjadi secara alamiah dalam tumbuhan yang berfotosintesis, ganggang, beberapa jenis jamur, dan juga bakteri (Kusbandari dan Susanti, 2017). Buah kelapa sawit adalah salah satu buah yang mengandung pigmen β-karoten 54% lebih banyak dari alfa karoten. Zat warna β-karoten mempunyai rumus kimia C₄₀H₅₆ yang membentuk persenyawaan simetris. Bagian tengah senyawa β-karoten merupakan rantai atom C yang panjang dengan ikatan-ikatan rangkap yang dapat ditukar dengan ikatan tunggal. Sedangkan pada kedua ujung rantai β-karoten terdapat cincin segi enam (Irvan *et al.*, 2016). Struktur kimia β-karoten disajikan pada Gambar 3.

Gambar 3. Struktur kimia β-karoten (Sumber: Octaviani *et al.*, 2014)

Secara alami, β -karoten memiliki sifat lipofilik, yaitu β -karoten dapat mudah larut dalam minyak, lemak, dan pelarut yang sifatnya non polar (Johar dan Mustikaningrum, 2023). Visualisasi dari senyawa aktif β -karoten menunjukkan terdapat molekul hidrofobik yang menempel pada matriks ikatan. Sifat hidrofobik yaitu jenis senyawa yang menolak air. Hal tersebut menyebabkan β -karoten akan lebih mudah larut pada jenis pelarut yang bersifat non polar (Chen *et al.*, 2017).

β-karoten memiliki fungsi yang sangat penting dalam tubuh yaitu sebagai prekursor sintesis vitamin A atau disebut dengan provitamin A. Selanjutnya provitamin A nantinya akan diubah menjadi vitamin A (*retinal*). β-karoten memiliki banyak ikatan rangkap. Ikatan rangkap tersebut menyebabkan β-karoten sangat sensitif terhadap udara, cahaya, dan suhu tinggi (diatas 60°C) (Sah, 2016). Suhu tinggi akan merusak gugus kromofor yang menyebabkan warna pigmen berubah menjadi pucat (Oktora *et al.*, 2016). Sifat fisik β-karoten disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Sifat fisik β-karoten

Spesifikasi		
Berat Molekul	536,8 kg/kmol	
Densitas (20°C)	$1000,15 \text{ kg/m}^3$	
Tekanan Uap (70°C)	$3 \times 10^{-6} \mathrm{kPa}$	
Warna	Oranye	

(Sumber: Irvan et al., 2016)

2.4. Kromatografi kolom

Kromatografi merupakan metode pemisahan kimia berdasarkan perbedaan distribusi zat dalam fase padat dan fase gerak. Tujuan kromatografi biasanya untuk memisahkan senyawa-senyawa dalam suatu campuran. Pemisahan dengan kromatografi dapat dilakukan dengan mudah dan cepat hanya dengan menggunakan peralatan yang relatif sederhana (Fasya *et al.*, 2018). Kromatografi kolom merupakan salah satu contoh kromatografi adsorbsi (Lestari, 2022).

Prinsip kerja kromatografi kolom adalah adanya perbedaan absorbansi dari masing-masing senyawa campuran yang akan dipisahkan. Senyawa polar lebih kuat akan diserap dalam gel silika sehingga turun lebih lambat, sedangkan senyawa non polar lebih lemah diserap dan bergerak lebih cepat. Senyawa dalam kolom terpisah membentuk pita serapan sesuai dengan polaritas senyawa dan mengalir keluar kolom dengan pelarut (fase gerak) dengan polaritas yang sama. Fase gerak yang digunakan dapat berupa pelarut murni atau campuran dua pelarut yang bersesuaian dengan perbandingan tertentu. Pelarut yang digunakan dapat berupa pelarut polar dan pelarut non polar (Emilda dan Delfira, 2023).

Fasa gerak dalam kromatografi kolom bertindak sebagai pembawa campuran, komponen-komponen campuran akan bergerak dengan kecepatan yang berbedabeda akibat hambatan dari fase diam sehingga terjadi pemisahaan. Jenis eluen yang digunakan pada kromatografi kolom dipilih supaya senyawa yang berbeda dapat dipisahkan secara efektif. Fase diam yang digunakan dalam kromatografi kolom berupa adsorben yang tidak boleh larut dalam fasa gerak, ukuran partikel fase diam harus seragam. Fase diam berbentuk serbuk *microsporous* untuk meningkatkan luas permukaan, biasanya berupa silika gel (Salamah dan Guntarti, 2023).

2.5. Silika Gel

Silika gel adalah silika amorf terdiri dari gumpalan-gumpalan SiO4 yang memiliki bentuk tetrahedral dan tersusun secara tidak merata membentuk suatu kerangka tiga dimensi yang besar. Rumus kimia silika gel umumnya adalah SiO2.x H2O dengan struktur satuan mineral silika mengandung kation Si⁴⁺ yang terkoordinasi secara tedrahedral dengan anion O²⁻. Silika gel merupakan bentuk gabungan dari penggumpalan sol natrium silika (Na2SiO3). Rata-rata ukuran pori silika gel yaitu 2,4 nanometer dan memiliki afinitas kuat terhadap molekul air. Beberapa kelebihan silika gel diantaranya yaitu sangat inert, hidrofilik (dapat berikatan dengan air), memiliki kestabilan termal dan mekanik, serta relatif tidak mengembang dalam pelarut organik. Sifat tersebut menjadikan silika gel banyak digunakan sebagai zat pengering, penopang katalis, penyerab atau absorben. Silika gel pada umumnya digunakan sebagai absorben senyawa-senyawa polar, pengisi pada kromatografi kolom, dan juga sebagai isolator (Sanam *et al.*, 2022).

Matriks dan partikel silika gel primer adalah inti yang terdiri dari atom silikon yang terikat bersama silikon lain oleh adanya atom oksigen dengan ikatan siloksan (Si-O-Si) sehingga pada permukaan tiap partikel primer terdapat gugus -OH yang tidak terkondensasi yang berasal dari monomer asam silikat. Gugus -OH yang kemudian dikenal dengan gugus silanol inilah yang memberikan sifat polar pada silika gel dan merupakan sisi aktif silika gel. Silika gel mempunyai keaktifan

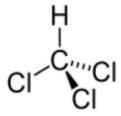
adsorpsi pada permukaannya (Arisqi *et al.*, 2021). Struktur silika gel disajikan pada Gambar 4.

Gambar 4. Struktur silika gel (Sumber: Arisqi *et al.*, 2021)

2.6. Pelarut

2.6.1. Kloroform

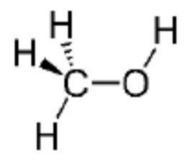
Kloroform atau dikenal juga dengan triklorometana merupakan cairan bening dan berbau karakteristik dengan rumus molekul CHCl₃. Kloroform lebih dikenal karena digunakan sebagai bahan pembius, namun pada kenyataannya kloroform lebih banyak digunakan sebagai pelarut non polar di laboratorium atau industri (Hidayati, 2018). Nilai indeks polaritas kloroform sebesar 4,1 (Sundari *et* al., 2021). Menurut Fajarullah *et al.* (2014) dalam penelitiannya menyatakan bahwa pelarut kloroform merupakan pelarut terbaik dalam mengekstraksi senyawa golongan terpenoid. Kloroform adalah zat cair yang mudah menguap dengan titik didih 61,2°C, berbau sedap, tidak berwarna, tidak larut dalam air, tetapi mudah larut dalam alkohol atau eter. Kloroform memiliki rumus molekul CHCl₃, berat molekul 119,38 g/mol, titik lebur -63,5°C (Yuliyani, 2015). Struktur kimia kloroform disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur kimia kloroform (Sumber: Agustina *et al.*, 2019)

2.6.2. Metanol

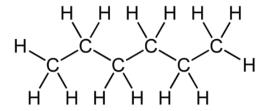
Metanol dikenal juga sebagai metil alkohol, *wood alcohol* atau spiritus, merupakan salah satu zat kimia yang termasuk ke dalam golongan alkohol dan memiliki bentuk sederhana dari alkohol. Metanol memiliki struktur kimia CH₃OH dan bersifat polar dengan indeks polaritas sebesar 5,1 (Sundari *et* al., 2021). Metanol adalah bentuk alkohol yang paling sederhana. Saat "keadaan atmosfer" metanol berbentuk cairan yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar, dan beracun dengan bau yang khas (berbau lebih ringan daripada etanol). Metanol digunakan sebagai bahan pendingin anti beku, pelarut, bahan bakar, dan bahan additif bagi etanol industri (Istyqomah, 2021). Struktur kimia metanol disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Struktur kimia metanol (Sumber: Widarti *et al.*, 2020)

2.6.3. Heksana

Heksana merupakan sebuah hidrokarbon alkana rantai lurus yang memiliki 6 atom karbon dengan rumus molekul C₆H₁₄ (Gambar 7). Karakteristik yang dimiliki heksana yaitu sangat tidak polar, volatil, mempunyai bau khas yang dapat menyebabkan pingsan. Isomer heksana tidak reaktif serta dapat digunakan secara luas sebagai pelarut inert dalam reaksi organik karena heksana bersifat non polar (Pratiwi, 2021). Nilai indeks polaritas heksana yaitu sebesar 0,1 (Sundari *et* al., 2021). Heksana didapatkan dari hasil penyulingan minyak mentah yang produk industrinya yaitu fraksi yang mendidih pada suhu 65-70°C. Sumber minyak yang digunakan akan mempengaruhi komposisi dan fraksinya (Laila *et al.*, 2022).



Gambar 7. Struktur kimia heksana (Sumber: Widarti *et al.*, 2020)

Heksana adalah salah satu pelarut yang baik untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang memiliki kepolaran yang sama, misalnya untuk ekstraksi minyak dan lemak. Senyawa heksana merupakan cairan yang tidak berwarna dan tidak larut dalam air saat dalam keadaan standar (Pratiwi, 2021). Pelarut heksana termasuk dalam tipe pelarut tipe 2 yang bisa digunakan, namun harus dibatasi penggunaanya. Batas konsentrasi heksan yaitu sebesar 1000 ppm (Amelia *et al.*, 2023). Sifat fisik kimia heksana disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Sifat fisik kimia heksana

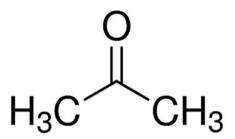
Karakteristik	Syarat
Bobot molekul	86,2 gram/mol
Warna	Tak berwarna
Wujud	Cair
Titik lebur	95°C
Titik didih	69°C
Densitas	0,6603 g/mL pada 20°C

(Sumber: Pratiwi, 2021)

2.6.4. Aseton

Aseton merupakan suatu senyawa karbonil yang mempunyai gugus fungsi keton (-CO) dengan nilai indeks polaritas sebesar 5,1 (Octavia *et* al., 2019). Nama lain dari aseton yaitu propanon, dimetil keton, propan-2-on, 2-propanon, β-keton propana, dan dimetil formaldehida. Aseton dibuat dari alkohol sekunder dengan cara oksidasi. Aseton adalah senyawa organik berupa cairan tidak berwarna dengan ciriciri yaitu mudah menguap, mudah terbakar, serta mempunyai bau yang khas (Prasetyo *et al.*, 2018). Biasanya aseton digunakan untuk membuat plastik, serat,

obat-obatan, dan senyawa-senyawa kimia lainnya. Selain itu, aseton juga digunakan sebagai pelarut yang bersifat semi polar, sehingga dapat menarik senyawa polar maupun senyawa non polar (Verdiana *et al.*, 2018). Struktur kimia aseton disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Struktur kimia aseton (Sumber: Jannah, 2022)

III. METODOLOGI

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus sampai dengan Oktober 2024, di Laboratorium Analisis Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian dan Laboratorium Pengujian Mutu Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *Spent Bleaching Earth* (SBE), aquadest, air, silika gel, aseton, heksana, metanol (CH₃OH), kloroform (CHCl₃), etanol 96%, kapas, aluminium foil, dan kertas saring whatman. Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain Erlenmeyer, evaporator, corong kaca, batang pengaduk, timbangan analitik, statif, klem, kromatografi kolom, spatula, botol kaca, labu alas datar, tabung reaksi, *beaker glass*, labu ukur, *rubber bulb*, plat TLC, lampu UV, aluminium foil, pipet ukur, chamber, tip, cawan petri, botol amber, dan spektrofotometri UV-Vis.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) menggunakan perlakuan tunggal yaitu perbandingan pelarut yang terdiri dari 6 taraf dan masing-masing perlakuan dilakukan 4 kali ulangan. Perlakuan terdiri dari perbandingan kloroform dan metanol yang terdiri dari 6 taraf yaitu P1 (100% kloroform); P2 (97% kloroform : 3% metanol); P3 (80% kloroform

: 20% metanol); P4 (50% kloroform : 50% metanol); P5 (20% kloroform : 80% metanol); dan P6 (100% metanol). Maka dari 6 perlakuan (t) tersebut, dengan jumlah ulangan (r) berdasarkan rumus (t-1) (r-1) ≥ 15, (6-1) (r-1) ≥ 15, setidaknya terdapat 4 (empat) kali ulangan sehingga total percobaan yang akan dilakukan sebanyak 24 percobaan. Keragaman data diuji dengan Uji Bartlet dan kemenambahan data diuji dengan uji Tuckey. Data kemudian dianalisis dengan sidik ragam untuk mendapatkan penduga ragam alat dan mengetahui ada atau tidaknya pengaruh perlakuan. Selanjutnya data diuji lanjut dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf signifikasi 5%.

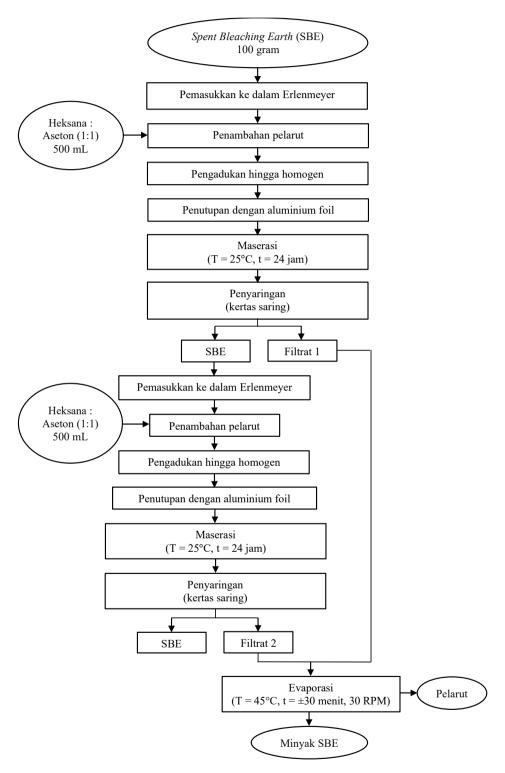
3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Ekstraksi Minyak Spent Bleaching Earth (SBE)

Penelitian ini dilakukan untuk mengekstraksi minyak dalam SBE menggunakan metode maserasi. Prosedur diawali dengan ditimbang SBE sebanyak 100 g dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan pelarut heksana dan aseton dengan perbandingan 1 : 1 sebanyak 500 mL dan diaduk menggunakan batang pengaduk hingga homogen. Setelah itu, bagian atas serta sekeliling Erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi pada suhu 25°C dengan lama ekstraksi 24 jam. Kemudian hasil ekstraksi disaring menggunakan corong serta kertas saring, lalu didapatkan SBE dan filtrat 1.

SBE hasil penyaringan dilakukan maserasi kembali dengan prosedur yang sama yaitu SBE dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan pelarut heksana dan aseton dengan perbandingan 1 : 1 sebanyak 500 mL lalu diaduk menggunakan batang pengaduk hingga homogen. Setelah itu, ditutup bagian atas serta sekeliling bagian Erlenmeyer menggunakan aluminium foil. Ekstraksi maserasi dilakukan pada suhu 25°C dengan lama ekstraksi 24 jam. Setelah itu, hasil ekstraksi disaring menggunakan corong serta kertas saring, lalu didapatkan SBE dan filtrat 2. Selanjutnya filtrat 1 dan filtrat 2 dievaporasi pada suhu 45°C dengan waktu 30 menit

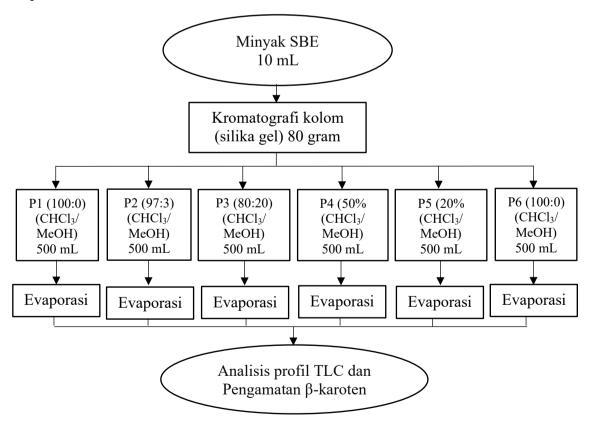
serta kecepatan pengadukan sebesar 30 RPM dan didapatkan minyak SBE. Prosedur ekstraksi minyak dalam SBE dengan metode maserasi disajikan pada Gambar 9.



Gambar 9. Diagram alir ekstraksi minyak dalam SBE dengan metode maserasi (Sumber : Armidianti *et al.*, 2021 yang dimodifikasi)

3.4.2. Isolasi β-Karoten Minyak Spent Bleaching Earth (SBE)

Setelah tahap ekstraksi minyak dalam SBE, selanjutnya dilakukan isolasi β-karoten dengan metode kromatografi kolom. Prosedur diawali dengan hasil ekstrak minyak SBE sebanyak 10 mL yang masih berupa campuran dipisahkan menggunakan kromatografi kolom. Fase diam yang digunakan berupa silika gel sebanyak 80 gram. Fase gerak yang digunakan sesuai dengan perlakuan yaitu P1 (100% kloroform); P2 (97% kloroform : 3% metanol); P3 (80% kloroform : 20% metanol); P4 (50% metanol : 50% kloroform); P5 (20% kloroform : 80% metanol); dan P6 (100% metanol) masing-masing sebanyak 500 mL. Kemudian dilakukan evaporasi serta pengamatan berupa analisis profil TLC (*Thin Layer Chromatography*) dan β-karoten. Silika gel yang telah digunakan pada ulangan pertama dicuci menggunakan metanol sampai tiga kali pencucian untuk digunakan kembali pada ulangan berikutnya. Prosedur isolasi β-karoten menggunakan kromatografi kolom disajikan pada Gambar 10.



Gambar 10. Diagram alir isolasi β-karoten menggunakan kromatografi kolom (Sumber: Perdana, 2023 yang dimodifikasi)

3.5. Pengamatan

3.5.1. Rendemen *Crude* β-karoten

Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak pekat hasil evaporasi yang dihasilkan, ditimbang dalam wadah yang telah diketahui beratnya kemudian berat ekstrak pekat dibandingkan dengan berat awal sampel. Rendemen menggunakan satuan persen (%), semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan bahwa nilai ekstrak yang didapat semakin banyak (Bani *et al.*, 2023). Rendemen dihitung dengan rumus sebagai berikut:

Rendemen (%) =
$$\frac{\text{berat akhir sampel (g)}}{\text{berat awal sampel (g)}} \times 100\%$$

3.5.2. Identifikasi *Crude* β-Karoten

Fase gerak yang digunakan pada pengujian TLC untuk menentukan nilai RF adalah kloroform: metanol (50:50). Sementara itu, fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 F₂₅₄. Prosedur diawali dengan disiapkan plat TLC dengan ukuran 6 cm × 5 cm. Selanjutnya digambar garis dengan pensil dibawah plat dengan jarak 1 cm dari tepi bawah. Setelah itu, chamber dijenuhkan dengan fase gerak kloroform: metanol (50:50) lalu ditutup rapat. Larutan β-karoten murni sebagai pembanding dan larutan sampel diteteskan menggunakan tip pada plat TLC. Setelah sampel pada plat TLC mengering, dimasukkan ke dalam chamber yang berisi fase gerak dengan posisi tegak dan bagian tepi bawah tercelup dalam fase gerak namun tidak sampai terendam. Chamber ditutup rapat sampai sampel merambat keatas plat TLC. Kemudian plat TLC dikeluarkan dan dikeringkan di udara, lalu bercak diamati dibawah sinar UV untuk memperjelas noda yang terbentuk. Selanjutnya diukur dan dicatat tiap-tiap bercak dari titik penetesan (Agustina *et al.*, 2019). Nilai RF kemudian dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut.

$$RF = \frac{Jarak yang ditempuh komponen}{Jarak yang ditempuh eluen}$$

3.5.3. Kadar β-Karoten dalam Eluat

1. Pembuatan larutan induk

Pembuatan larutan induk β-karoten dilakukan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh (Agustina *et al.*, 2019) dengan modifikasi. β-karoten murni sebanyak 12,5 mg ditimbang lalu dilarutkan ke dalam 25 mL etanol PA untuk membuat larutan induk 500 ppm.

2. Pembuatan kurva β-karoten

Pembuatan kurva β-karoten dilakukan dengan cara sebanyak 1 mL; 2 mL; 3 mL; 4 mL; dan 5 mL dipipet dari larutan induk 500 ppm lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL dan dicukupkan volumenya menggunakan pelarut etanol PA sampai tanda batas. Selanjutnya diperoleh larutan 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan 500 ppm untuk membuat kurva standar. Masing-masing larutan kemudian diencerkan 100 kali dengan etanol PA

3. Penetapan kadar β-karoten

Penetapan kadar β-karoten dilakukan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh (Harahap *et al.*, 2020) dengan modifikasi. Sampel sebanyak 0,01 g ditimbang lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL. Selanjutnya dilarutkan dengan pelarut etanol PA sampai tanda batas. Setelah itu, dihomogenkan sampel sampai tidak ada minyak yang memisah dengan etanol. Kemudian diukur absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 451 nm.

3.5.4. Rendemen β-Karoten

Total β-karoten =
$$\frac{\text{konsentrasi }\beta - \text{karoten (ppm)}}{1.000.000} \times \text{berat eluat}$$

Rendemen
$$\beta$$
-karoten (%) = $\frac{\text{Total }\beta\text{-karoten}}{\text{berat awal sampel (mg)}} \times 100\%$

V. KESIMPULAN

Perbandingan pelarut 100% kloroform : 0% metanol menghasilkan rendemen β -karoten tertinggi dengan nilai rendemen *crude* β -karoten, kadar *crude* β -karoten eluat, nilai RF *crude* β -karoten, dan rendemen β -karoten eluat dengan nilai berturutturut sebesar 29,085%, 239,861 ppm, 0,669, dan 0,024%.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrian, M. M., Paransa, D. S., Paulus, J. J., Kawung, N. J., Bara, R. A., dan Keppel, R. C. 2021. Analisis jenis pigmen karotenoid pada kepiting *sesarmops* sp dari pesisir teluk manado. *Jurnal Ilmiah Platax*. 9(2): 204-209.
- Agustina, A., Hidayati, N., dan Susanti, P. 2019. Penetapan kadar β-karoten pada wortel (*Daucus carota*, L.) mentah dan wortel rebus dengan spektrofotometri visibel. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*. 5(1): 6–10.
- Alviola, B. A., Amin, A., Mun'im, A., dan Radji, M. 2023. Rasio nilai rendamen dan lama ekstraksi maserat etanol daging buah burahol (*Stelecocharpus burahol*) berdasarkan cara preparasi simplisia. *Makassar Natural Product Journal*. 1(3): 2023–2176.
- Amelia, J. R., Iryani, D. A., Hasanudin, U., Sugiharto, R., Ginting, S. B., dan Indraningtyas, L. 2023. *Pengelolaan Spent Bleaching Earth*. AURA. Bandar Lampung. 128 hal.
- Andrianto, Y. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Daun *Bruguiera gymnorrhiza* dengan Pelarut dan Lama Ekstraksi yang Berbeda Menggunakan Metode Sonikasi. (Skripsi). Universitas Brawiyaja. Malang. 94 hal.
- Andry, M., dan Hanafis, S. W. 2022. Uji aktivitas antibakteri *Streptococcus mutans* serta formulasi sediaan pasta gigi ekstrak etanol buah okra hijau (*Abelmoschus esculentus*) dan tulang ikan tuna (*thunnini*). *Journal of Pharmaceutical and Sciences*. 5(2): 250–258.
- Armidianti, M., Achmad, A. R. B., Pujiastuti, C., dan Ngatilah, Y. 2021. Pengambilan minyak dari limbah pemurnian minyak goreng *spent bleaching earth* dengan metode ekstraksi. *Seminar Nasional Soebardjo Brotohardjono*. 17: 45-48.
- Asrori, M. R., Sutrisno, S., dan Wijaya, H. W. 2020. Sinergi kimia dan pendidikan kimia untuk menyiapkan generasi di era disruptif. *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pembelajarannya (SNKP) 2020.* Universitas Negeri Malang.179-196.

- Asworo, R. Y., dan Widwiastuti, H. 2023. Pengaruh ukuran serbuk simplisia dan waktu maserasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit sirsak. *Indonesian Journal of Pharmaceutical*. 3(2): 256-263.
- Badaring, D. R., Puspitha, S., Sari, M., Nurhabiba, S., Wulan, W., dan Lembang, S. A. R. 2020. Uji ekstrak daun maja (*Aegle marmelos* 1.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*. 6(1): 16-26.
- Cartika, H., Nida, K., Achmadi, N. K., dan Elisya, Y. 2023. Identifikasi rhodamin B pada produk kosmetik yang beredar secara *online*. *Jurnal Farmasi* IKIFA. 2(2): 1–8.
- Chen, D., Zhao, C. X., Lagoin, C., Hai, M., Arriaga, L. R., Koehler, S., Abbaspourrad, A., and Weitz, D. A. 2017. Dispersing hydrophobic natural colourant β-carotene in shellac particles for enhanced stability and tunable colour. *Royal Society Open Science*. 4(12): 170919.
- Darmawansyah, A., Nurlansi, dan Haeruddin. 2023. Pemisahan senyawa terpenoid ekstrak n-heksan daun kembu-embu (*Blumea balsamifera*) menggunakan kromatografi kolom gravitasi. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*. 12(1): 24-30.
- Dayanti, H. 2024. Ekstraksi Residu Minyak dalam *Spent Bleaching Earth* dengan Pelarut Heksana dan Aseton untuk Meningkatkan Recovery Beta Karoten. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 84 hal.
- Dianursanti, Siregar, A. R., Maeda, Y., Yoshino, T., dan Tanaka, T. 2020. The effects of solvents and solid-to-solvent ratios on ultrasound-assisted extraction of carotenoids from chlorella vulgaris. *International Journal of Technology*. 11(5): 941–950.
- Emilda, E. dan Delfira, N. 2023. Pemanfaatan silika gel 70-230 mesh bekas sebagai pengganti fase diam kromatografi kolom pada praktikum kimia organik. *Indonesian Journal of Laboratory*. 1(1): 45-51.
- Fadhilah, R., Gatera, V. A., Saula, L. S., dan Sakiran. 2022. Uji kadar formalin pada tahu yang di jual di kabupaten karawang dengan metode spektrofotometer visible. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*. 8(21): 357–369.
- Fajarullah, A., Irawan, H., dan Pratomo, A. 2014. Ekstraksi senyawa metabolit sekunder lamun *Thalassodendron ciliatum* pada pelarut berbeda. *Repository Umrah*. 1(1): 1–15.
- Fasya, A. G., Tyas, A. P., Mubarokah, F. A., Ningsih, R., dan Madjid, A. D. R. 2018. Variasi diameter kolom dan rasio sampel-silika pada isolasi steroid dan triterpenoid alga merah *Eucheum cottonii* dengan kromatografi kolom basah. *ALCHEMY: Journal Of Chemistry*. 6(2): 57-64.

- Feni, R., dan Marwan, E. 2023. Perkembangan luas areal dan produksi sawit serta pengaruhnya terhadap PDRB sub sektor perkebunan provinsi bengkulu. *Jurnal Sosial Ekonomi Pertanian*. 19(2): 139–152.
- Forestryana, D., dan Arnida. 2020. Phytochemical screenings and thin layer chromatography analysis of ethanol extract jeruju leaf (*Hydrolea spinosa* L.) article history. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*. 11(2): 113–124.
- Handarni, D., Putri, S. H., dan Tensiska, T. 2020. Skrining kualitatif fitokimia senyawa antibakteri pada ekstrak daun jambu biji (*Psidiium guajava L.*). *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem*. 8(2): 182–188.
- Harahap, I. S., Wahyuningsih, P., dan Amri, Y. 2020. Analisa kandungan beta karoten pada CPO (*crude palm oil*) di pusat penelitian kelapa sawit (ppks) medan menggunakan spektrofotometri uv-vis. *Jurnal Kimia Sains Dan Terapan*. 2(1): 9-13.
- Hujjatusnaini, N., Indah, B., Afitri, E., Widyastuti, R., dan Ardiansyah. 2021. *Buku Referensi Ekstraksi*. IAIN Palangkaraya. Palangkaraya. 227 hal.
- Ikshar., Salempa, P., dan Herawati, N. 2022. Isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak metanol daun tumbuhan tembelekan (*Lantana camara* Linn.). *Jurnal Chemica*. 23(2): 32–43.
- Irvan., Wardhani, O. P., Aini, N., dan Iriany. 2016. Adsorpsi β-karoten yang terkandung dalam minyak kelapa sawit (*crude palm oi*l) menggunakan karbon aktif. *Jurnal Teknik Kimia USU*. 5(1): 52-57.
- Istyqomah, N. 2021. Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kulit Batang Tumbuhan Pudau (*Artocarpus kemando* Miq.). (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 72 hal.
- Jannah, M. 2022. Pengaruh Penambahan Aseton sebagai Pelarut dalam Pembuatan Membran dari Minyak Nyamplung (Calophyllum inophyllum). (Skripsi). Universitas Islam Negeri Ar-Raniry. Banda Aceh. 62 hal.
- Johar, N., dan Mustikaningrum, M. 2023. Evaluasi konstanta kecepatan ekstraksi beta (β)-karoten berbasis campuran pelarut aseton dan dietil eter. *REACTOR: Journal of Research on Chemistry and Engineering*. 4(1): 19.-25.
- Kresnawaty, I., Budiani, A., Tri-Panji., dan Suharyanto. 2012. Isolasi dan mikroenkapsulasi vitamin e dari *crude palm oi*l sebagai sumber antioksidan bahan pangan. *Menara Perkebunan*. 80(2): 68-76.
- Krisyanti, S. dan Sukandar. 2011. Recovery minyak dari limbah bahan berbahaya dan beracun (b3) *spent bleaching earth* dengan metode ekstraksi pelarut. *Jurnal Teknik Lingkungan*. 17(1): 35-46

- Kusbandari, A. dan Susanti, H. 2017. Kandungan beta karoten dan aktivitas penangkapan radikal bebas terhadap DPPH (1,1-difenil 2-pikrilhidrazil) ekstrak buah blewah (*Cucumis melo var. cantalupensis* L.) secara spektrofotometri uv-visibel. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Community*. 14(1): 37–42.
- Laila, R. A. J. O., Putri, N. N., dan Hasan, S. R. B. 2022. Uji aktivitas antioksidan ekstrak n-heksana kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) dengan metode DPPH. *Journal Health & Science Community*. 6(1): 50–57.
- Lestari, A. W. 2022. Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Beta Karoten dari Ekstrak Pigmen Caulerpa racemos. (Skripsi). Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta. Jakarta. 78 hal.
- Mahmud, S. F. 2019. Proses pengolahan cpo (*crude palm oil*) menjadi RBDPO (*refined bleached and deodorized palm oil*) di PT xyz dumai. *UNITEK*. 12(1): 55–64.
- Mangunsong, S., Assiddiqy, R., Sari, E. P., Marpaung, P. N., dan Sari, R. A. 2019. Penentuan β-karoten dalam buah wortel (*Daucus carota*) secara kromatografi cair kinerja tinggi (u-*hplc*). *Jurnal Action : Aceh Nutrition Journal*. 4(1): 36–41.
- Mba, O. I., Dumont, M. J., dan Ngadi, M. 2015. Palm oil: Processing, characterization and utilization in the food industry A review. *Food Bioscience*. 10: 26–41.
- Merikhy, A., Heydari, A., Eskandar, H., and Nematollahzadeh, A. 2019. Revalorization of spent bleaching earth a waste from vegetable oil refinery plant by an efficient solvent extraction system. *Waste and Biomass Valorization*. 10(10): 3045–3055.
- Muammar A. M. 2021. Tinjauan sistem pengering silika gel berbasis abu sekam padi menggunakan sistem vakum *tray dryer* terhadap kemampuan daya serap. *Jurnal Kinetika*.12(3): 26–30.
- Mundriyastutik, Y., Kusumatuti, D., dan Tuzzahroh, F. 2021. Evaluasi kadar formaldehid ikan teri (*Stolephorus heterolobus*) asin dengan metode spektrofotometri uv-vis. *Indonesia Jurnal Farmasi*. 5(2): 19-25.
- Muslich, Utami, S., dan Nastiti, S. I. 2020. Pemulihan minyak sawit dari *spent bleaching earth* dengan metode ekstraksi refluks. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. 30(1): 90-99.
- Noviyanti, L. 2010. Modifikasi Teknik Kromatografi kolom untuk Pemisahan Trigliserida dari Ekstrak Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.). (Skripsi). Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 64 hlm.

- Octaviani, T., Guntarti, A., dan Susanti, H. 2014. Penetapan kadar β-karoten pada beberapa jenis cabe (*Genus capsicum*) dengan metode spektrofotometri tampak. *Pharmaciana*. 4(2): 101–109.
- Octavia, Y., Chrisnasari, R., dan Marianti, M. G. P. 2019. Ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) sebagai antioksidan alami minyak kelapa (*Cocos nucifera*). Calyptra: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya. 7(2): 4562-4580.
- Oktora, R. A., Ma'ruf, F. W., dan Agustini, W. T. 2016. Pengaruh penggunaan senyawa fiksator terhadap stabilitas ekstrak kasar pigmen β-karoten mikroalga *Dunaliella salina* pada kondisi suhu berbeda. *JPHPI*. 19(3): 206–213.
- Paspi (Palm oil Agribusiness Strategic Policy Institute). 2021. Kebun sawit lumbung vitamin a dan e. *Palm Oil Journal*. 2: 455-459.
- Perina, I., Satiruiani, Soetaredjo, F. E., dan Hindarso, H. 2007. Ekstraksi pektin dari berbagai macam kulit jeruk. *Widya Teknik*. 6(1): 1–10.
- Prasetyo, G. L., Fitriani, S. E., Sihotang, D. P., dan Zulkania, A. 2018. Potensi kandungan aseton dari limbah puntung rokok. *Khazanah: Jurnal Mahasiswa*. 10(2): 1–6.
- Pratiwi, E. 2021. Ekstraksi Minyak Dedak Padi Menggunakan Metode Maserasi dengan Pelarut Heksana. (Skripsi). Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Purwokerto. 55 hal.
- Purnamasari, F. 2021. Identifikasi senyawa aktif dari ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan perbandingan beberapa pelarut pada metode maserasi. *Window of Health: Jurnal Kesehatan.* 4(3): 231–237.
- Rahmawati, R. 2022. Penentuan Suhu dan Waktu Optimum pada Pembuatan Biodiesel dari Minyak Sawit Hasil Ekstraksi Spent Bleaching Earth (SBE) secara Transesterifikasi. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 49 hal.
- Ria, F. 2018. Optimasi Proses Pemurnian *Crude Palm Oil* (CPO) Menggunakan Regenerasi Spent Bleaching Earth (SBE). (Skipsi). Universitas Brawijaya. Malang. 98 hal.
- Robiansyah, Mustain, Aznury, M., dan Safaruddin. 2022. Analisis penggunaan limbah b3 *spent bleaching earth* sebagai bahan bakar alternatif di PT semen baturaja (persero) tbk. *Jurnal Kinetika*. 13(3): 49–55.
- Safitri, D. A. 2016. Pemisahan Senyawa Steroid Fraksi Etil Asetat Mikroalga Chlorella Sp. Menggunakan Kromatografi kolom Cara Basah dan Kering. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang. 108 hal.

- Sah, S. Y. 2016. Pengaruh Metode Ekstraksi dan Waktu Ekstraksi terhadap Beta Karoten Mikroalga (*Dunaliella sp.*). Universitas Brawijaya. Malang. 90 hal.
- Saiya, A., dan Caroles, J. D. S. 2022. Validasi metode analisis β-karoten dengan spektrofotometri uv-vis dan aplikasinya pada penetapan kadar β-karoten dalam buah labu kuning. *Fullerene Journ.Of Chem.* 7(1): 8–12.
- Sakinah. 2019. Penggunaan Metode Sonikasi dalam Ekstraksi Pektin Kulit Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*) dengan Konsentrasi Pelarut Asam Asetat dan Lama Waktu Ekstraksi. (Skripsi). Universitas Jember. Jember. 51 hal.
- Salamah, N., dan Guntarti, A. 2023. *Analisis Instrumen: Kromatografi dan Elektroforesis*. UAD Press. Yogyakarta. 136 hal.
- Sanam, P. R. R., Pote, L. L., dan Latumakulita, G. 2022. Sintesis dan karakterisasi silika gel dari limbah batu akik asal desa nian kabupaten timor tengah utara menggunakan metode sol gel. *Indonesian Journal of Chemical Research*. 7(2): 9-17.
- Silaa, A. E., Paransa, D. S., Rumengan, A. P., Kemer, K., Rumampuk, N. D., dan Manoppo, H. 2019. Pemisahan jenis pigmen karotenoid dari kepiting *Grapsus* sp jantan menggunakan metode kromatografi kolom. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*. 7(2): 121-128.
- Sinaga, M. I. 2021. Proses Transesterifikasi In Situ *Spent Bleaching Earth* (SBE) untuk Produksi Biodiesel: Pengaruh Rasio Metanol dan Konsentrasi Katalis NaoH. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 61 hal.
- Sriarumtias, F. F. 2016. Pengukuran kadar betakaroten dan fenol total buah pepino kuning (*Solanum muricatum* Aiton) pada tingkat kematangan yang berbeda. *Jurnal Farmako Bahari*. 7(2): 12-21.
- Sundari, R. S., Rizkuloh, L. R., dan Mardianingrum, R. 2021. Pengaruh perbedaan pelarut terhadap kadar fenol total dan aktivitas antioksidan ekstrak gadung (*Dioscorea Hispida Dennst*.). Jurnal Biopropal Industri. 12(1): 43–49.
- Verdiana, M., Widarta, I. W. R., dan Permana, I. D. G. M. 2018. Pengaruh jenis pelarut pada ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm f.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*: 7(4): 213-222.
- Wahyuni, D. T., dan Widjanarko, S. B. 2015. Pengaruh jenis pelarut dan lama ekstraksi terhadap ekstrak karotenoid labu kuning dengan metode gelombang ultrasonik. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(2): 390–401.

- Widiantara, I. M., Yulianti., dan Basri, B. S. 2020. Ekstraksi beta karoten dari buah kelapa sawit (*Elaeis guineensis*) dengan dua jenis pelarut. *Gorontalo Agriculture Technology Journal*. 3(1): 38-44.
- Wijaya, H., Wardayanie, N. I. A., Astuti, R. M., dan Lahiya, R. A. 2018. Isolasi senyawa β-karoten dari minyak kelapa sawit mentah (*Elaesis guineensis* Jacq.) dengan metode kromatografi kolom terbuka. *Journal of Agro-Based* Industry. 35(2): 74–84.
- Yudi, A., Wirawan, N. B., Apriwelni, S., dan Sembiring, T. S. 2018. Pemanfaatan limbah *spent bleaching earth* (sbe) dari industri pengolahan minyak kelapa sawit sebagai pengganti agregat halus pada aplikasi beton. *Teras Jurnal*. 1–11.
- Yuliyani, M. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kloroform Limbah Padat Daun Serai Wangi (*Cymbopogon Nardus*) terhadap Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* dan *Staphylococcus Aureus*. (Disertasi). Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Yogyakarta. 51 hal.
- Zakiyah, A. 2023. Pengaruh Suhu dan Waktu Reaksi Transesterifikasi pa Pembuatan Biodiesel dari Residu Minyak *Spent Bleaching Earth* (SBE). (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 53 hal.